

令和 6 年 6 月 11 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K15116

研究課題名（和文）無性芽形成を介したゼニゴケの栄養繁殖を制御する仕組みの解析

研究課題名（英文）Analysis of the mechanism controlling vegetative reproduction through gemma formation in *Marchantia polymorpha*

研究代表者

小松 愛乃 (Komatsu, Aino)

東北大学・生命科学研究科・助教

研究者番号：70824837

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：多くの植物は種子で増えるだけでなく、体の一部からクローンを作る「栄養繁殖」でも旺盛に増殖する。本研究では、ゼニゴケの栄養繁殖をモデルに、ゼ無性芽と呼ばれるクローンの形成が遺伝的に決定される分子機構の解析を行い、植物ホルモンKAI2-ligand (KL) が無性芽形成ホルモンであることを発見した。また、環境情報に合わせてKL信号のオン/オフをコントロールすることにより栄養繁殖の程度が調節されていることを明らかにした。KL信号伝達誘導系を確立、利用することでKL信号伝達の下流で無性芽形成を制御する遺伝子群を特定に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

栄養繁殖は植物の生存戦略上非常に重要であり、作物栽培においても重要性質であるが、栄養繁殖の程度を調節する分子機構については知見が乏しい。本研究の成果は、陸上植物で保存されているKLを受容し信号を流す信号伝達機構が栄養繁殖の調節に寄与することを明らかにしたものであり、栄養繁殖の調節機構の起源や進化の解明につながると期待される。また、KL信号伝達の下流で機能する遺伝子群を明らかにしたことで、KL信号伝達の下流制御機構の解析が可能となった。未解明な部分の多いKL信号伝達の下流制御機構について解明の足がかりとなり得る。

研究成果の概要（英文）：A wide range of plants uses vegetative or asexual reproduction for propagation. The vegetative reproduction is controlled by environmental conditions, but the molecular signaling pathways that control this process are poorly understood. We designed a research study to investigate the hormones and signaling pathways associated with vegetative reproduction in the liverwort plant *Marchantia polymorpha* and demonstrated that the MpKARRIKIN INSENSITIVE2 (MpKAI2)-dependent signaling pathway initiates gemma cup, the structure that surrounds gemmae plantlets, and gemmae formation in liverwort plants, and that KAI2-dependent signaling determines the total number of gemmae produced in a gemma cup. By establishing and utilizing the signal transduction induction system, we succeeded in identifying a group of genes that control gemma formation downstream of KL signal transduction.

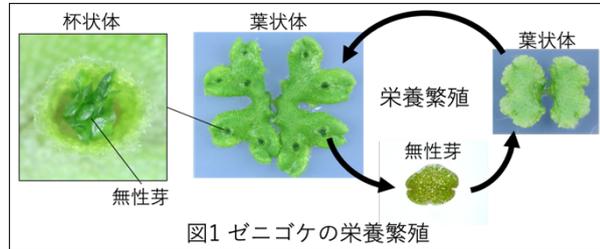
研究分野：植物発生

キーワード：栄養繁殖 ゼニゴケ 植物ホルモン KL信号伝達

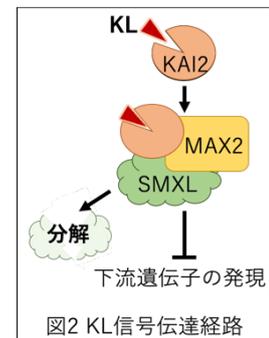
様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

葉や根、茎から新たなクローン個体を作る「栄養繁殖」は植物の繁殖形態のひとつであり、多くの植物で見られる。栄養繁殖は迅速で旺盛な繁殖を可能にするが、栄養繁殖を最適化する制御機構の解明は、植物の旺盛な繁殖力の基盤の理解につながる重要な課題である。コケ植物の栄養繁殖は古くから研究されており、栄養、光条件、湿度など環境の変化に応じて栄養繁殖の程度が調節されていることが知られていたが、その調節の仕組みは未解明であった。ゼニゴケは年間を通して栄養繁殖によって旺盛に繁殖する(図1)。ゼニゴケの栄養繁殖では、杯状体とよばれるカップ状器官の中にクローン個体である無性芽を大量に形成する。ゼニゴケの栄養繁殖を最適化するためには杯状体で形成される無性芽数の決定や内外



の環境に合わせた無性芽数の調節が重要であると考えられるが、無性芽数の調節に関する研究はほとんどなかった。私たちは、KL (KAI2 Ligand) 信号伝達がゼニゴケの無性芽数決定に関わることを見出し、未同定のリガンド KL を受容すると受容体 KAI2 が活性化して F-box タンパク質 MAX2 により転写抑制因子 SMXL が分解に導かれ、SMXL に抑制されていた遺伝子群が発現することが栄養繁殖の程度の調節において重要である可能性を見出していた(図2)。



## 2. 研究の目的

栄養繁殖の程度を調節する分子機構を明らかにするため、SMXL が直接転写抑制する無性芽形成促進遺伝子群を単離し、それらの機能を解析するとともに、KL 信号伝達による無性芽形成制御機構を明らかにすることを目的とする。

## 3. 研究の方法

### (1) 無性芽形成における SMXL 標的遺伝子群を単離する

KL 信号伝達変異体を作成して、杯状体部分で RNA-seq 解析を行う。また、独自に開発した KL 信号伝達誘導系を用い、KL 信号がオンの時とオフの時の RNA-seq 解析を行う。KL 信号伝達依存的に発現変動した遺伝子群を SMXL の下流遺伝子群として選抜する。さらに、データベース等の情報も統合して無性芽形成に関わる遺伝子群を選抜する。

### (2) 無性芽形成における SMXL 標的遺伝子群の機能解析：

(1) で選抜した無性芽形成における SMXL 標的遺伝子群から、配列情報などを基に解析対象とする遺伝子を選び、分子マーカーを利用して発現部位を決定する。また、機能欠損変異体を作成し、表現型を解析する。これらの解析から、無性芽形成への関与が明確であると確認された遺伝子について、形態学的、組織化学的な解析や無性芽形成分子マーカーを用いた遺伝学的解析を行う。

### (3) KL 信号伝達系による標的遺伝子の制御：

(2) で解析対象とした SMXL 標的遺伝子と KL 信号伝達遺伝子との多重変異体作出、KL 信号伝達変異体での標的遺伝子の過剰発現等を行い、SMXL 標的遺伝子が KL 信号伝達の下流で機能

することを検証する。KL 信号伝達変異体における SMXL 標的遺伝子の挙動を調べ、KL 信号伝達による標的遺伝子の制御機構に関する知見を得る。同定した標的遺伝子の環境応答を調べ、無性芽数を制御する環境情報に関する情報を得る。

#### 4. 研究成果

- (1) 無性芽数が遺伝的に決定される形質であることを見出し、無性芽形成の調節に関わる遺伝子群を特定した

ゼニゴケの栄養繁殖が遺伝的に制御されていることを示し、定量的に解析できる実験系を立ち上げた。KL 信号伝達変異体の定量的解析から、KL 信号が流れると無性芽が形成される、すなわち KL は無性芽形成ホルモンであることを明らかにした。また、経時的な杯状体形成過程の観察手法と分子マーカーによる KL 信号伝達の可視化手法を確立し、若い杯状体では杯状体全域で KL 信号が伝達され、杯状体が成長するにつれて KL 信号が伝達される部位が杯状体周縁に限定され、無性芽形成が終了する頃には KL 信号伝達が停止することを明らかにした。これらの解析結果から、KL 信号を適切なタイミングでオンからオフに切り替えることで、杯状体内に形成する無性芽数が適切に制御されていることを示した。ゼニゴケの栄養繁殖をモデルとして、今後、栄養繁殖に関わる環境要因の決定やその伝達など独自性の高い研究の展開が期待される。

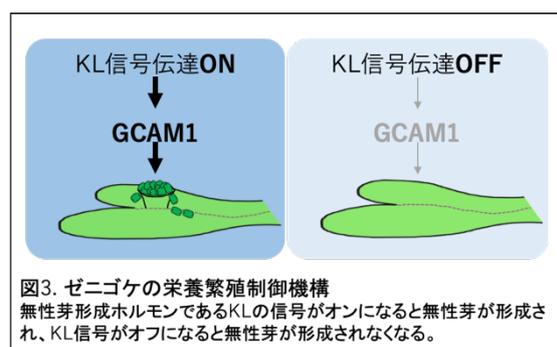
さらに、KL 信号伝達のオン/オフ依存的な杯状体部分の網羅的遺伝子発現解析によって、無性芽形成時に発現が上昇する遺伝子群から *GEMMA-ASSOCIATED MYB1* (*GCAM1*) 遺伝子を見出した。ほかにも SMXL の下流遺伝子群を選抜しており、今後の機能解析を予定している。

- (2) 無性芽形成における *GCAM1* の関与を明らかにした

分子マーカーを用いて *GCAM1* の発現部位の解析を可能にし、*GCAM1* が無性芽形成部分で特異的に発現することを明らかにした。*GCAM1* は杯状体形成に関与することが報告されていたが、*GCAM1* 機能欠損変異体および過剰発現体の表現型解析によって、無性芽数の制御にも関与することを示した。*GCAM1* の発現量と無性芽形成の関係を解析したことで、*GCAM1* の発現量に応じて無性芽数が増加することが明らかになった。今後、無性芽形成部分を同定するマーカーとして *GCAM1* が利用できる可能性が示された。

- (3) KL 信号伝達依存的な *GCAM1* 発現制御を明らかにした

KL 信号伝達が無性芽形成に関与する *GCAM1* を介して杯状体や無性芽形成を制御するのではないかと考え、KL 信号伝達変異体における *GCAM1* 発現量を解析した。SMXL 機能欠損変異体では、野生型植物に比べて *GCAM1* 遺伝子の発現量が高くなっており、無性芽数が増加していた。また、KL 信号伝達誘導系においても、KL 信号伝達誘導時に *GCAM1* 発現が上昇していた。したがって、KL は *GCAM1* 遺伝子の発現をコントロールすることにより、無性芽形成数を制御していることが明らかになった (図 5)。



以上より、KL 信号伝達のオン/オフを制御することによって *GCAM1* 遺伝子の発現を制御し、無性芽数を調節する、すなわち栄養繁殖の程度が調節されていることがわかった。KL 信号

伝達のオン/オフの切り替えを指標として、環境情報が KL 信号伝達を介して栄養繁殖(無性芽形成)を調節する仕組みを解明できる可能性が示唆され、今後、さらなる解析を行う。環境に応じた栄養繁殖調節機構の解明によって、植物の増殖原理の理解に迫ることができると期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Kameoka Hiromu, Shimazaki Shota, Mashiguchi Kiyoshi, Watanabe Bunta, Komatsu Aino, Yoda Akiyoshi, Mizuno Yohei, Kodama Kyoichi, Okamoto Masanori, Nomura Takahito, Yamaguchi Shinjiro, Kyojuka Junko	4. 巻 33
2. 論文標題 DIENELACTONE HYDROLASE LIKE PROTEIN1 negatively regulates the KAI2-ligand pathway in Marchantia polymorpha	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Current Biology	6. 最初と最後の頁 3505 ~ 3513.e5
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cub.2023.06.083	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Tomizawa Yoko, Minamino Naoki, Shimokawa Eita, Kawamura Shogo, Komatsu Aino, Hiwatashi Takuma, Nishihama Ryuichi, Ueda Takashi, Kohchi Takayuki, Kondo Yohei	4. 巻 64
2. 論文標題 Harnessing Deep Learning to Analyze Cryptic Morphological Variability of <i>Marchantia polymorpha</i>	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Plant And Cell Physiology	6. 最初と最後の頁 1343 ~ 1355
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/pcp/pcad117	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Komatsu Aino, Kodama Kyoichi, Mizuno Yohei, Fujibayashi Mizuki, Naramoto Satoshi, Kyojuka Junko	4. 巻 33
2. 論文標題 Control of vegetative reproduction in Marchantia polymorpha by the KAI2-ligand signaling pathway	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Current Biology	6. 最初と最後の頁 1196 ~ 1210.e4
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cub.2023.02.022	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kodama K., Rich M. K., Yoda A., Shimazaki S., Xie X., Akiyama K., Mizuno Y., Komatsu A., Luo Y., Suzuki H., Kameoka H., Libourel C., Keller J., Sakakibara K., Nishiyama T., Nakagawa T., Mashiguchi K., Uchida K., Yoneyama K., Tanaka Y., Yamaguchi S., Shimamura M., Delaux PM., Nomura T., Kyojuka J.	4. 巻 13
2. 論文標題 An ancestral function of strigolactones as symbiotic rhizosphere signals	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 3974
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-022-31708-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Mizuno Yohei, Komatsu Aino, Shimazaki Shota, Naramoto Satoshi, Inoue Keisuke, Xie Xiaonan, Ishizaki Kimitsune, Kohchi Takayuki, Kyojuka Junko	4. 巻 33
2. 論文標題 Major components of the KARRIKIN INSENSITIVE2-dependent signaling pathway are conserved in the liverwort <i>Marchantia polymorpha</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Plant Cell	6. 最初と最後の頁 2395 ~ 2411
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/plcell/koab106	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yao Jiaren, Scaffidi Adrian, Meng Yongjie, Melville Kim T., Komatsu Aino, Khosla Aashima, Nelson David C., Kyojuka Junko, Flematti Gavin R., Waters Mark T.	4. 巻 230
2. 論文標題 Desmethyl butenolides are optimal ligands for karrikin receptor proteins	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 New Phytologist	6. 最初と最後の頁 1003 ~ 1016
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/nph.17224	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計16件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 Aino Komatsu, Mizuki Fujibayashi, Fukutaro Hosoya, Kazato Kumagai, Hidemasa Suzuki, Kyoichi Kodama, Yohei Mizuno, Yumiko Takebayashi, Mikiko Kojima, Hitoshi Sakakibara, Xiaonan Xie, Satoshi Naramoto, Junko Kyojuka
2. 発表標題 KL signaling pathway regulates vegetative reproduction via cytokinin biosynthesis in <i>Marchantia polymorpha</i> .
3. 学会等名 IPGSA, The 24th International Conference on Plant Growth Substances (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 小松 愛乃, 藤林 瑞季, 細矢 福多郎, 熊谷 風杜, 鈴木 秀政, 児玉 恭一, 水野 陽平, 竹林 裕美子, 小嶋 美紀子, 榊原 均, 謝 肖男, 橋本 悟史, 経塚 淳子
2. 発表標題 KL信号伝達によるゼニゴケ栄養繁殖の制御
3. 学会等名 日本植物学会第87回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Aino Komatsu, Mizuki Fujibayashi, Kazato Kumagai, Hidemasa Suzuki, Hitoshi Sakakibara, Junko Kyojuka
2. 発表標題 KL signaling pathway regulates vegetative reproduction via cytokinin biosynthesis in Marchantia polymorpha
3. 学会等名 Taiwan-Japan Plant Biology 2023 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Aino Komatsu, Hidemasa Suzuki, Yohei Mizuno, Yuki Hata, Yumiko Takebayashi, Mikiko Kojima, Hitoshi Sakakibara, Junko Kyojuka
2. 発表標題 Control of vegetative reproduction of Marchantia polymorpha by the KL signaling
3. 学会等名 2024 International Conference on the Molecular Biology of Streptophytes, ICMS (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 小松 愛乃, 藤林 瑞季, 細矢 福多郎, 熊谷 風杜, 鈴木 秀政, 児玉 恭一, 竹林 裕美子, 小嶋 美紀子, 榊原 均, 経塚 淳子
2. 発表標題 サイトカイニンによるタイ類ゼニゴケの栄養繁殖制御
3. 学会等名 日本植物学会第86回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 熊谷風杜、鈴木秀政、小松愛乃、児玉恭一、経塚淳子
2. 発表標題 苔類ゼニゴケにおけるKL信号伝達の下流因子探索
3. 学会等名 日本植物学会第86回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Aino Komatsu, Kyoichi Kodama, Yohei Mizuno, Mizuki Fujibayashi, Satoshi Naramoto, Junko Kyozyuka
2. 発表標題 KARRIKIN INSENSITIVE2 (KA12)-dependent signaling pathway controls vegetative reproduction in Marchantia polymorpha
3. 学会等名 EMBO WORKSHOP 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小松愛乃, 藤林 瑞季, 細矢 福多郎, 熊谷 風杜, 鈴木 秀政, 児玉 恭一, 竹林 裕美子, 小嶋 美紀子, 榊原 均, 経塚 淳子
2. 発表標題 苔類ゼニゴケ栄養繁殖のKL信号伝達系とサイトカイニンによる制御
3. 学会等名 第5回コケ幹細胞研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 熊谷 風杜, 鈴木 秀政, 小松 愛乃, 児玉 恭一, 謝 肖男, 経塚 淳子
2. 発表標題 ゼニゴケにおけるKL信号伝達系の下流因子探索
3. 学会等名 日本植物生理学会第64回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 小松 愛乃, 藤林 瑞季, 細矢 福多郎, 熊谷 風杜, 鈴木 秀政, 児玉 恭一, 水野 陽平, 竹林 裕美子, 小嶋 美紀子, 榊原 均, 謝 肖男, 榎本 悟史, 経塚 淳子
2. 発表標題 KL信号伝達系はサイトカイニンを介してタイ類ゼニゴケの栄養繁殖を制御する
3. 学会等名 日本植物生理学会第64回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 岩淵 功誠, 八木 宏樹, 沖 奈那夏, 横畑 伶奈, 中田 亜紗美, 広本 沙耶, 小松 愛乃, 酒井 友希, 高木 慎吾, 西浜 竜一, 河内 孝之, 渡辺 洋平, 上田 晴子, 西村 いくこ
2. 発表標題 ゼニゴケの細胞核光定位運動におけるキネシン様タンパク質MpKAC の機能的役割
3. 学会等名 日本植物生理学会第64回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 児玉恭一, 島崎翔太, 小松愛乃, 亀岡啓, Yi Luo, 野村崇人, 嶋村正樹, 西山智明, 経塚淳子
2. 発表標題 コケ植物を用いた植物ホルモンとしてのストリゴラクトンの祖先的機能の解析
3. 学会等名 日本植物学会第85回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小松愛乃, 水野陽平, 児玉恭一, 島崎翔太, 熊谷風杜, 鈴木秀政, 榎本悟史, 経塚淳子
2. 発表標題 ゼニゴケの旺盛な栄養繁殖の基盤となる個体数調節機構
3. 学会等名 日本植物学会第85回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Junko Kyoizuka, Aino Komatsu, Kyoichi Kodama, Kazato Kumagai, Hidemasa Suzuki
2. 発表標題 Control of vegetative reproduction by KL signaling in Marchantia polymorpha
3. 学会等名 第63回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 岩淵功誠、八木宏樹、守谷健太、沖奈那夏、横畑伶奈、中田亜紗美、広本沙耶、小松愛乃、酒井友希、嶋田知生、高木慎吾、西浜竜一、河内孝之、渡辺洋平、上田晴子、西村いくこ
2. 発表標題 陸上植物における細胞核定位運動の多様性と共通性
3. 学会等名 第63回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小松愛乃、児玉恭一、熊谷風杜、鈴木秀政、水野陽平、島崎翔太、経塚淳子
2. 発表標題 ゼニゴケの栄養繁殖は環境とKL信号伝達で調節される
3. 学会等名 第4回コケ幹細胞研究会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>植物の栄養繁殖を制御するホルモンを発見 植物の旺盛な増殖力の起源の解明につながると期待  <a href="https://www.tohoku.ac.jp/japanese/2023/03/press20230315-01-kl.html">https://www.tohoku.ac.jp/japanese/2023/03/press20230315-01-kl.html</a>  Degree of Asexual Reproduction in Liverwort ...  <a href="https://www.tohoku.ac.jp/en/press/degree_asexual_reproduction_in_liverwort_plants_is_hormonally_controlled.html">https://www.tohoku.ac.jp/en/press/degree_asexual_reproduction_in_liverwort_plants_is_hormonally_controlled.html</a>  植物の栄養繁殖を制御するホルモンを発見 植物の旺盛な増殖力の起源の解明につながると期待  <a href="https://www.lifesci.tohoku.ac.jp/research/results/detail---id-51182.html">https://www.lifesci.tohoku.ac.jp/research/results/detail---id-51182.html</a></p>
---

6. 研究組織		
氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------