

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K19037

研究課題名（和文）始原植物ホルモンを用いる「人工的先祖返り」戦略によるシグナル伝達冗長性のオリジン

研究課題名（英文）Artificial feedback technology to understand the genetic redundancy

研究代表者

上田 実（Ueda, Minoru）

東北大学・理学研究科・教授

研究者番号：60265931

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：ゼニゴケの植物ホルモンの化学合成を達成し、また、ゼニゴケ型ホルモン受容体 MpCO11の遺伝子を取得し、これを昆虫細胞培養系を用いて異種発現することに成功した。キメラ型受容体 MpCO11-AtJAZとゼニゴケの植物ホルモンの親和性を蛍光異方性で確認した結果、ゼニゴケの植物ホルモンは、13種のJAZサブタイプの内の一部のみとMpCO11-AtJAZとリガンドとの複合体を形成した。続いて、キメラ型受容体MpCO11-AtJAZをもつ遺伝子改変植物を調整した。現在はホモ体の選抜を進めており、完了次第「人工的先祖返り」実験を進める予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

植物のほとんどの生理機能は植物ホルモンによって制御されており、その進化的起源から複雑な植物ホルモンシグナル伝達ネットワークを解明する試みが盛んである。ジャスモン酸イソロイシン（A-Ile）は、植物の病原菌感染耐性や虫による食害への防御応答など、魅力的な作用をもつ植物ホルモンである。高等植物では、JA-Ile受容体が冗長的に機能し、それぞれ異なる生物応答を制御している。一方、始原陸上植物ゼニゴケのMpCO11-MpJAZ共受容体ペアは1種類のみであり、進化の過程で遺伝的冗長性が発生した。本研究は、天然物化学と分子進化遺伝学をハイブリッドさせた「人工的先祖返り」戦略により、この謎の解明に挑戦した。

研究成果の概要（英文）：We have achieved chemical synthesis of phytohormones of *Marchantia polymorpha*, and have also obtained the gene for the *Marchantia* MpCO11, which was successfully expressed heterologously using an insect cell culture system. We have also established an in vitro experimental system to confirm the affinity of the chimeric receptor MpCO11-AtJAZ, consisting of these proteins, with the plant hormone of the common glasswort by fluorescence anisotropy. The results showed that, as expected, the zeren moss phytohormone formed a complex of MpCO11-AtJAZ and ligand with only some of the 13 JAZ subtypes. This completed the proof-of-concept experiment in an in vitro system.

Subsequently, a transgenic plant with the chimeric receptor MpCO11-AtJAZ was adjusted by introducing the MpCO11 gene into a *coi1-1* mutant strain of *Arabidopsis thaliana*. Selection of homozygotes is currently underway, and upon completion, we plan to proceed with “Artificial Throwback (ATB)” experiments in individual plants.

研究分野：天然物ケミカルバイオロジー

キーワード：植物ホルモン ジャスモン酸 受容体 ゼニゴケ

## 1. 研究開始当初の背景

申請者は、植物の生物活性天然有機化合物をツールとして用いる生物有機化学研究に長年従事し、2010年頃から植物ホルモンのケミカルバイオロジー研究に本格的に参入した。この過程で、スペイン国立生物工学研究所(スペインの生物科学研究のトップ研究機関)所長である Roberto Solano 教授(2014-2020, Highly Cited Researcher)との国際共同研究を開始し、ゼニゴケの始原ホルモン研究を開始した。この国際共同研究において、Solano 教授らが2018年に提唱したホルモン候補分子(*Nat. Chem. Biol.* 2018, 14, 480)よりも強い活性をもち、生物学的にも矛盾のない真の始原ホルモン分子を発見した。申請者は、各種スペクトル解析ならびに生合成機構から候補構造を6種に絞り込み、候補構造を網羅的に化学合成することで、その分子の実体を解明した。この成果に基づき、真の始原ホルモン分子をツールとして利用することで、高等植物に残存する、冗長性発生以前の原始的なシグナル伝達系のみを選択的に動かす「人工的先祖返り(Artificial Throwback; ATB)」戦略を着想した。

## 2. 研究の目的

植物は、食糧資源として、医薬資源やバイオマスの供給源として、近年その重要性が見直されている。植物のほとんどの生理機能は植物ホルモンによって制御されており、その進化的起源から複雑な植物ホルモンシグナル伝達ネットワークを解明する試みが盛んである(*Mol. Plant*, 2018, 11, 1097; *PNAS*, 2018, 115, E7844; *Annu. Rev. Plant Biol.*, 2020, 71, 327)。

ジャスモン酸イソロイシン(図1、JA-Ile)は、植物の病原菌感染耐性や虫による食害への防御応答、二次代謝活性化など、魅力的な作用をもつ植物ホルモンである。JA-Ileは、なぜこのように多様な生物応答を引き起こすことができるのか?その謎は、受容体の解明によって明らかになった。植物体内には、JA-IleのCOI1-JAZ共受容体(図1)が、重複して存在する。モデル植物シロイヌナズナ(*Arabidopsis thaliana*)は13種のAtCOI1-AtJAZ共受容体ペアをもち(図1)、進化した陸上植物は多くのCOI1-JAZ共受容体ペアをもち(トマト13種、イネ45種)。高等植物では、これらが冗長的に機能しつつ、それぞれ異なる生物応答を制御している。一方、始原陸上植物ゼニゴケ(*Marchantia polymorpha* L)のMpCOI1-MpJAZ共受容体ペアは1種類のみであり(図1、*Mol. Plant* 2019, 12, 185)、進化の過程でCOI1-JAZ共受容体ペアに重篤な遺伝的冗長性が発生したことが分かる。では高等植物は、何のために、一つのホルモンに対して多くの受容体を持つように進化したのか?本申請では、天然物化学と分子進化遺伝学をハイブリッドさせた「人工的先祖返り(Artificial Throwback; ATB)」戦略により、この謎の解明に挑戦した。

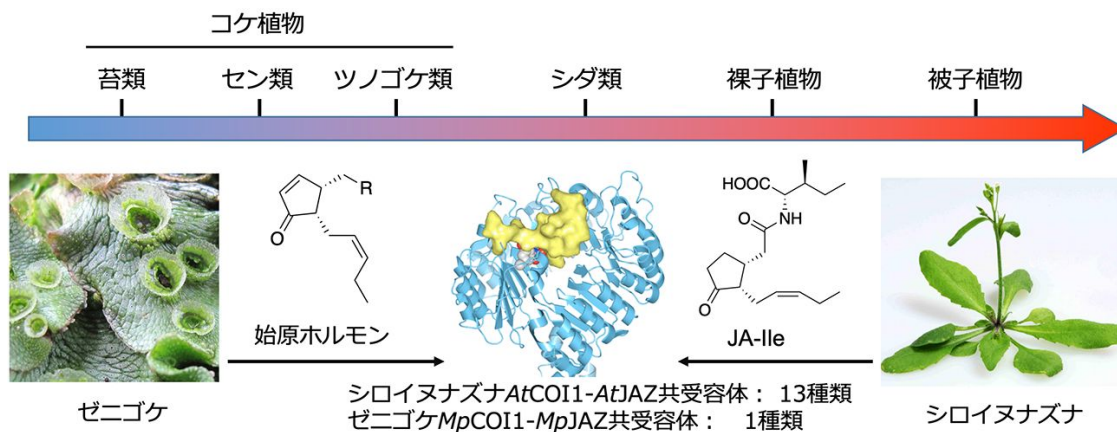


図1 始原植物ゼニゴケの始原ホルモン（部分構造）と高等植物の植物ホルモン

### 3. 研究の方法

ゼニゴケは JA-Ile の代わりに原始的な「始原植物ホルモン」を用いている。申請者らは、ゼニゴケの真の始原植物ホルモンを発見し、合成により構造を決定した（論文準備中）。本申請では、天然物化学と分子進化遺伝学をハイブリッドさせた「人工的先祖返り（Artificial Throwback; ATB）」戦略を提案する（図 2a&b）。

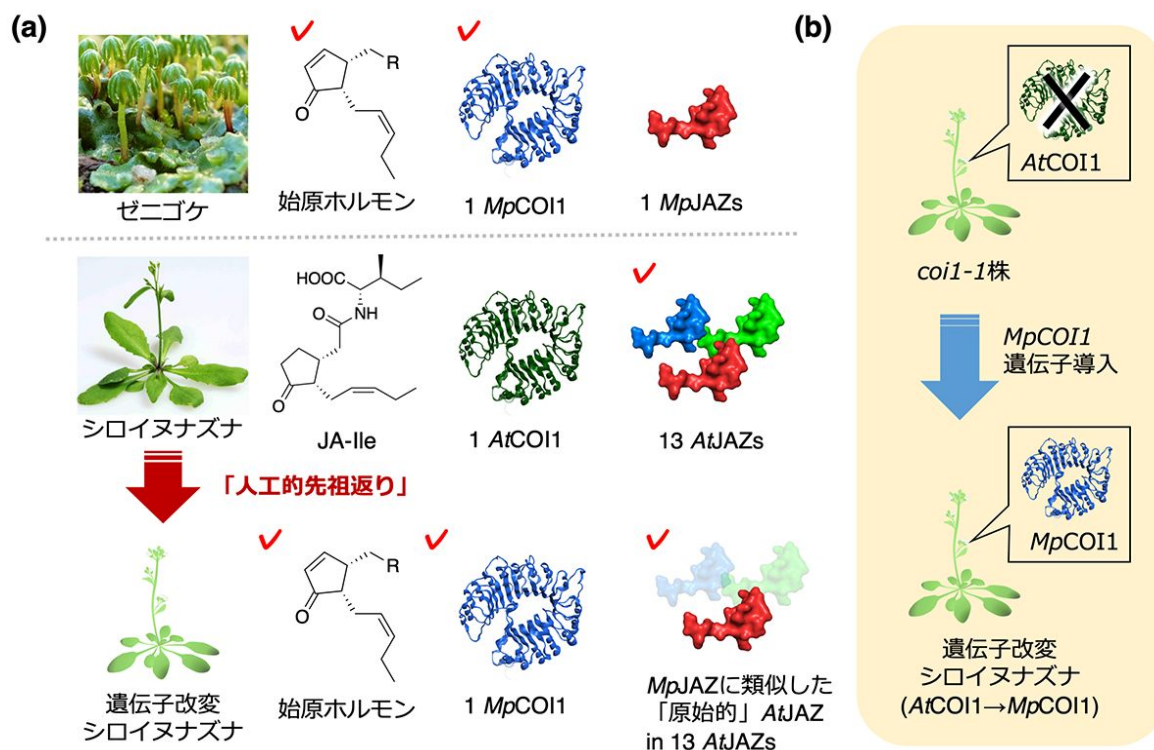


図2 (a) ATB 戦略：ゼニゴケ *MpCOI1* を導入した遺伝子改変シロイヌナズナに始原ホルモンを投与すると、*MpJAZ* とホモロジーの高い「原始的」な *AtJAZ* のみが *MpCOI1-AtJAZ* 共受容体として機能する、(b) *coi1-1* 変異株に *MpCOI1* 遺伝子を導入した遺伝子改変シロイヌナズナ

ゼニゴケ型 *MpCOI1-MpJAZ* 共受容体および13種のシロイヌナズナ型 *COI1-JAZ* 共受容体は、それぞれ2つのタンパク質（*MpCOI1* と *MpJAZ*、*AtCOI1* と13種の *AtJAZ*）から構成される複合体である（図 2a）。このため、スワッピングによってキメラ型受容体（*MpCOI1-AtJAZ*）を作ることができる。*In vitro* 実験において、シロイヌナズナの13種の *AtJAZ* のうち、*MpJAZ* とホモ

ロジの高い「原始的」な *AtJAZ* のみが、始原ホルモン共存下で *MpCOI1* とキメラ型共受容体を形成した。*AtCOI1* 遺伝子をノックアウトしたシロイヌナズナ *coi1-1* 変異株 (*Science* **1998**, 280, 1091) に *MpCOI1* 遺伝子を導入し (図 2b)、キメラ型受容体 *MpCOI1-AtJAZ* をもつ遺伝子改変植物を作り出す。これに化学合成した始原ホルモンを投与すると、*MpJAZ* とホモロジの高い「原始的な」*AtJAZ* に由来するシグナル伝達のみが活性化される (図 2a 下、人工的先祖返り = **ATB** 戦略)。ATB 戦略により、高等植物に残存する、冗長性発生以前の原始的なシグナル伝達系のみを選択的に動かし、生物進化に伴って *COI1-JAZ* 共受容体が冗長性をもち、シグナル伝達が複雑なネットワークを形成した理由を解明する。

#### 4. 研究成果

研究期間中に、ゼニゴケの植物ホルモンの化学合成を達成し、また、ゼニゴケ型ホルモン受容体 *MpCOI1* の遺伝子を取得し、これを昆虫細胞培養系を用いて異種発現することに成功した。従来から使用していた大腸菌発現系で調整したシロイヌナズナ全長 *AtJAZ* タンパク質および、デグロンを含むショートペプチドを化学合成し、これらから構成されるキメラ型受容体 *MpCOI1-AtJAZ* とゼニゴケの植物ホルモンの親和性を蛍光異方性で確認する *in vitro* 実験系を立ち上げた。その結果、予想通りゼニゴケの植物ホルモンは、13 種の *JAZ* サブタイプの内の一部のみと *MpCOI1-AtJAZ* とリガンドとの複合体を形成した。これによって、*in vitro* 系での概念実証実験が完了した。

続いて、シロイヌナズナの *coi1-1* 変異株に *MpCOI1* 遺伝子を導入することで、キメラ型受容体 *MpCOI1-AtJAZ* をもつ遺伝子改変植物を調整した。現在はこのホモ体の選抜を進めており、完了次第植物個体における「人工的先祖返り (**Artificial Throwback; ATB**)」実験を進める予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kneeshaw Sophie, Soriano Gonzalo, Monte Isabel, Hamberg Mats, Zamarreno Angel M., Garcia-Mina Jose M., Franco-Zorrilla Jose Manuel, Kato Nobuki, Ueda Minoru, Rey-Stolle Ma Fernanda, Barbas Coral, Michavila Santiago, Gimenez-Ibanez Selena, Jimenez-Aleman Guillermo H., Solano Roberto	4. 巻 119
2. 論文標題 Ligand diversity contributes to the full activation of the jasmonate pathway in Marchantia polymorpha	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 e2202930119
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1073/pnas.2202930119	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

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
---------	---------