

研究種目：特定領域研究

研究期間：2007～2012

課題番号：19060008

研究課題名（和文）植物ホルモンであるオーキシンによる統御系

研究課題名（英文）Integrative regulatory system by a plant hormone, auxin

研究代表者

山本 興太郎 (YAMAMOTO KOTARO)

北海道大学・大学院理学研究院・教授

研究者番号：80142008

研究分野：植物生理学

科研費の分科・細目：基礎生物学・植物分子生理・生理学

キーワード：器官形成、遺伝子、イメージング、シグナル伝達、植物

1. 研究計画の概要

植物器官間の統御情報因子として最も古くから知られているのは、器官間で極性輸送される植物ホルモン、オーキシンである。オーキシンのシンクとして機能する部位にメリステムが形成されたり（根端メリステム）、器官が形成されること（茎頂メリステム）が分かっているが、オーキシンの下流で働く分子機構は依然不明である。オーキシンの機能の根源は、厳密に調節された時間的、空間的範囲で特定の遺伝子発現を誘導することだと考えられるので、第一にオーキシン信号伝達系の ARF-Aux/IAA モジュールが時空間的に調節される仕組みを、胚形成や葉の向背軸形成、胚軸の発達等の現象に即して明らかにする。第二に、Aux/IAA タンパク質と協調して働く因子を同定することを通して、この情報統御機構を明らかにする。

以上の目的のために、具体的には、(1) ルシフェラーゼをレポーターに用いた MSG2/IAA19 遺伝子のオーキシン応答機構の研究、(2) MSG2 遺伝子発現が異常になった突然変異体の原因遺伝子を同定することによる MSG2 発現調節機構の研究、(3) プロモーター解析による MSG2/IAA19 遺伝子発現調節機構の研究の三つの研究を企画した。

2. 研究の進捗状況

(1) ルシフェラーゼ融合 MSG2 タンパク質をシロイヌナズナに導入することによって MSG2 タンパク質の動態を芽生えで可視化することに成功した。その結果、従来から予測されていたように、MSG2 レベルはオーキシン添加後、一時的に低下してから上昇

に転じ、その動態は簡単なフィードバック・モデルで記述できることが分かった。また、MSG2 のオーキシン応答性は、胚軸と根で異なることが分かった。MSG2 の動態と伸長成長との関係を具体的に調べるために、雄蕊花糸の伸長に対するオーキシンの効果を調べたところ、花糸の伸長のステージ特異的にオーキシンの伸長促進効果があることが分かった。

(2) MSG2 プロモーター-GFP を導入したシロイヌナズナを変異原処理して突然変異を誘発し、GFP シグナルが低下する突然変異体をスクリーニングした。その結果、20 系統近くの変異体候補を得ることができたが、特徴的だったのは、その内、①3 系統が花茎の成長方向に異常をきたした変異体であったことと、②別の3 系統が花器官の協調的な成長に異常があったことである。

①の中の1 系統は花茎が傾斜屈性を示す変異体で、原因遺伝子がイネ LAZY1 遺伝子のシロイヌナズナ・オーソログであることを明らかにした。このシロイヌナズナ lazy1 変異体を示す異常（傾斜屈性）は暗所に置くことやエチレン投与によって部分的に回復した。これに関連して、シロイヌナズナの根の傾斜屈性の研究も行ない、根や花茎の傾斜屈性を記述する数理モデルを開発した。単離した他の1 系統は花茎が弱い傾斜屈性を示し、残りの1 系統は驚くべき事に花茎が正の屈地性（即ち、茎頂が下を向いて成長する）を示した。

①、②の他の変異体については現在、更にマッピングによる原因遺伝子探索を行っている。

3. 現在までの達成度

② おおむね順調に進展している。

(1) は当初の計画通り進行しており、(2) は当初の計画以上の成果が出ている。(2) では、今まで不明のままだった傾斜屈性の分子機構を一挙に明らかにできる可能性を秘めた変異体を同定することができたことが高く評価できる。一方、(3) はまだ手を付けることができていないので、総合的には②の評価とした。

4. 今後の研究の推進方策

(1) 花糸で伸長ステージ特異的にオーキシンによる伸長促進反応が起こるときに、MSG2 の動態と伸長反応との関係を調べ、伸長反応における MSG2 の作用を明らかにする。花糸の伸長にはオーキシン以外にジャスモン酸も関与していることを私たちは報告したが (Tabata et al., 2010)、ジャスモン酸信号伝達系は Aux/IAA に相互作用する TPL を共通に使用している。そこで、オーキシン同様ジャスモン酸の作用も花糸で観察し、両者のクロストークの実態を明らかにする。また、MSG2 応答が胚軸と根で異なる器官特異性を示す分子的原因を細胞レベルで明らかにする。

(2) 現在得ている変異体の原因遺伝子を更に同定する。①で述べた変異体のように下方に花茎が成長する表現型は今までまったく報告されたことがないので、この原因遺伝子を同定することを最優先で行いたい。①の3つの原因遺伝子の機能解析を行えば、植物で普遍的な傾斜屈性の分子機構が、オーキシンの関与の仕組みも含めて相当明らかにできると期待できる。機能解析時には、今までに開発してきたルシフェラーゼ・レポーターを用いて、実時間でオーキシン応答反応を調べることにする。②の変異体は花器官の成長異常を示すので、その原因遺伝子は(1)の花糸の伸長反応にも関与している可能性が強い。その場合には、原因遺伝子も含めて、オーキシンによる花糸伸長調節機構モデルを構築できるだろう。

(3) MSG2 遺伝子のプロモーター解析は、22年度後半から開始する。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計7件)

① Tabata, R., Ikezaki, M., Fujibe, T., Aida, M., Tian, C.-e., Ueno, Y., Yamamoto, K.T., Machida, Y., Nakamura, K., Ishiguro, S. (2010) Arabidopsis AUXIN RESPONSE FACTOR6 and 8 regulate jasmonic acid biosynthesis and floral organ development via repression of class 1

KNOX genes. *Plant Cell Physiol.* 51, 164-175. 査読有

② Tashiro, S., Tian, C.-e., Watahiki, M.K., Yamamoto, K.T. (2009) Changes in growth kinetics of stamen filaments cause inefficient pollination in *massugu2*, an auxin insensitive, dominant mutant of *Arabidopsis thaliana*. *Physiol. Plant.* 137, 175-187. 査読有

③ Sato, A., Yamamoto, K.T. (2008) Over-expression of the noncanonical *Aux/IAA* genes causes auxin-related aberrant phenotypes in *Arabidopsis*. *Physiol. Plant.* 133, 397-405. 査読有

[学会発表] (計24件)

① Sasaki, S., Sato, A., Watahiki, M.K., Yamamoto, K.T.: Initial characterization of the agravitropic *Arabidopsis* mutant that is orthologous to rice *lazy1*. Intl. Conference on *Arabidopsis* Research 2010, June 15-19, 2010, Yokohama.

[図書] (計1件)

① Muto, H., Kinjo, M., Yamamoto, K.T. (2008) Fluorescence cross-correlation spectroscopy of plant proteins. In: *Methods in Molecular Biology*, vol. 479, *Plant Signal Transduction -- Methods and Protocols* (Pfanschmidt, T., ed.), Humana Press, Totowa, pp. 203-215.