

令和元年6月10日現在

機関番号：12608

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K18552

研究課題名(和文)花芽形成過程における多機能性輸送体GTR1によるジベレリン/ジャスモン酸輸送機構

研究課題名(英文) Analysis of the gibberellin/jasmonate transport mechanism by GTR1 during flower development

研究代表者

佐々木 結子(関本結子)(Sasaki-Sekimoto, Yuko)

東京工業大学・生命理工学院・研究員

研究者番号：60422557

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：ジャスモン酸と(JA)とジベレリン(GA)はシロイヌナズナの稔性に必須の植物ホルモンである。私達は稔性制御に関わる因子GLUCOSINOLATE TRANSPORTER 1 (GTR1)の解析を進めている。本課題の遺伝子発現解析によりgtr1の花でGAの生合成または分布に異常が見られることが示唆された。またGTR1の相同遺伝子であるGTR2とGTR1との二重欠損株(gtr1gtr2)を解析し、gtr1gtr2は野生株に対して花系の細胞が短い、細胞の数自体は野生株と同程度であることを示した。この結果はGTR1とGTR2が冗長的に機能し、花系の伸長を介して受粉時期を制御することを示している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

花粉の受粉のタイミングは植物ホルモンによって制御されている。本研究では花芽の発達時において植物ホルモンの1つジベレリンの輸送体として機能するGTR1およびその相同遺伝子GTR2の詳細な機能解析を行い、これらが花系の伸長制御を介して受粉のタイミングを制御していることを示した。受粉が適切なタイミングで行われることは、作物の収量にも大きな影響を与える。そのため、受粉タイミングの制御機構の一端が明らかになることは、基礎研究のみならず、農業分野においても重要な知見となる。

研究成果の概要(英文)：Jasmonates (JAs) and gibberellins (GAs) have essential roles in regulating fertilization of Arabidopsis. We reported that GLUCOSINOLATE TRANSPORTER 1 (GTR1) expressed in *Xenopus* oocytes functions as a transporter for a bioactive form of JA and GA. We also show that gtr1 flowers have less bioactive GA, and the phenotype was complemented by the supplementation of bioactive GA, but not JA, suggesting GTR1 regulates fertility (Saito et al., 2015). Here, we focused on the gene expression profiles, and found that gtr1 had some defect in normal GA biosynthesis and/or distribution in flowers. GTR2 is a close homolog of GTR1. We investigated phenotypes of gtr1, gtr2 and gtr1gtr2 double mutants, and found that gtr1gtr2 has shorter epidermal cells in filaments than that of WT. However, gtr1gtr2 had the same number of epidermal cells observed in WT. These results show that GTR1 and GTR2 have redundant functions in filament elongation, and such process is crucial to regulate timing of pollinizer.

研究分野：植物生理学

キーワード：ジャスモン酸 ジベレリン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ジャスモン酸情報伝達の過程については多くの報告がなされてきたが、ジャスモン酸の輸送についての情報は限られている。そこで申請者らは、ジャスモン酸生合成遺伝子群と共発現する遺伝子のうち、NITRATE TRANSPORTER 1/PEPTIDE TRANSPORTER family (NPF) タンパク質である *AT3G47960/GTR1/NPF2.10* に着目した。*GTR1/NPF2.10* は、抗菌性物質グルコシノレート輸送体として報告されていた(Nour-Eldin *et al.*, Nature 2012)。しかし、申請者らの研究の結果から、アフリカツメガエルの卵母細胞で発現させた *GTR1* は、グルコシノレート以外にもジャスモン酸類やジベレリン類を細胞内に取り込む活性を有していることが示された。また、*gtr1* 変異体は葯の裂開や花糸の伸長に異常が見られ、その結果稔性が低下していた。さらに *gtr1* の稔性の低下は花に活性型ジベレリンである GA4 を処理することで相補されたが、活性型ジャスモン酸である JA-Ile ではされなかった。また、*gtr1* 変異体では花の発達過程で、活性型ジベレリンである GA1 および GA4 含量が野生株より低下していた。これらの結果は、*GTR1* が花芽の発達過程で、ジベレリン類の輸送に関わっていることを示唆している。

ジベレリンとジャスモン酸はいずれも花の発達、特に雄しべの発達に重要であり、それぞれの生合成遺伝子や情報伝達因子の欠損が雄性不稔を引き起こすことが知られている(Plackett *et al.*, Trends Plant Sci. 2011; Song *et al.*, Molecular plant 2013)。またジベレリンやジャスモン酸の生合成遺伝子は、いずれも花の発達過程で発現することが知られている。*gtr1* 変異体の花では GA1 および GA4 の含量が野生株に比べて低下していることから、*GTR1* によって活性型ジベレリンが輸送されている可能性が示唆されるが、実際の動態については明らかにされていない。

2. 研究の目的

研究代表者らは本研究の開始直前に、活性型ジベレリンや活性型ジャスモン酸に対する輸送活性を示し、シロイヌナズナの雄しべの発達を促す新規輸送体 *GTR1* の機能解析について報告した {Saito *et al.* (2015) The jasmonate-responsive *GTR1* transporter is required for gibberellin-mediated stamen development in Arabidopsis, 2015 *Nature commun.* 6:6095. doi: 10.1038/ncomms7095.}。そこで、研究代表者らは *GTR1* による植物ホルモンの輸送過程をさらに詳しく知るために、*GTR1* 自身の局在部位および、*GTR1* の輸送対象となる活性型ジベレリンおよび活性型ジャスモン酸の動態とその生理作用を明らかにすることを目的として本研究を行った。

3. 研究の方法

シロイヌナズナの野生株および *gtr1* 変異体の花芽を発達のステージごとにサンプリングして RNA を抽出し、qRT-PCR によりジベレリンの生合成および代謝に関わる遺伝子群の発現パターンを調べた。さらに雄しべにおける *GTR1* の発現パターンを詳細に明らかにするために、promoter*GTR1*-GUS を導入した形質転換体にジャスモン酸メチル処理した後組織染色を行った。また、*GTR1* のホモログである *GTR2* の働きにも着目し、*gtr1gtr2* 二重変異体を作製して雄しべの形態形成の過程を詳細に観察した。

4. 研究成果

本研究の結果から *GTR1* はジャスモン酸メチルを処理した葯および花糸で発現レベルが上昇することが示された。また、野生株では花芽において、ジベレリン生合成酵素遺伝子の発現が見られるが、*gtr1* 変異体では、その発現レベルが野生株と比較して有意に低下していることが明

らかになった。この結果は *gtr1* 変異体の花芽における活性型ジベレリン量が低下していることを示唆している。活性型ジベレリンは薬で合成されて花糸へと輸送されることが考えられているため、GTR1 の欠損により薬から花糸へのジベレリン輸送が滞ることが予想された。そこで花糸を構成する細胞の伸長過程を観察した結果、*gtr1* 変異体は細胞の縦方向への伸長が不十分であるために、野生株より雄しべが短いことが明らかになった。さらに GTR1 のホモログである GTR2 との二重変異体 *gtr1gtr2* では、*gtr1* および *gtr2* の単独変異体より花糸が短くなっていた。一方、*gtr1gtr2* 変異体の雄しべでは、細胞の伸長は抑制されているが細胞数は野生株と同程度であることが明らかになった。これらの結果から、GTR1 と GTR2 は花糸の伸長において重複した機能を持ち、ジベレリンの輸送に伴う花糸の細胞伸長を介した受粉のタイミングの制御に関わっていると考えられる。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 件)

〔学会発表〕(計 2 件)

Miyu Kanamori-Sato, Yuko Sasaki-Sekimoto, Hikaru Saito, Mie Shimojima and Hiroyuki Ohta.

Physiological function of jasmonate-responsive transporter GTR1 during stamen development in *Arabidopsis thaliana*.

6th Asian Symposium on Plant Lipids, Singapore, National University of Singapore. (2015)

金森(佐藤)美有, 佐々木(関本)結子, 斉藤洸, 下嶋美恵, 太田啓之.

シロイヌナズナ雄しべの発達時におけるジャスモン酸応答性輸送体 GTR1 の機能解析
第 57 回 日本植物生理学会, 岩手大学 上田キャンパス (2016)

〔図書〕(計 1 件)

関本(佐々木)結子, 太田啓之

新しい植物ホルモンの科学・第 3 版 第 8 章 ジャスモン酸
講談社サイエンティフィック (2016) 16 ページ

〔産業財産権〕

出願状況 (計 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

出願年 :

国内外の別 :

取得状況（計 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

ジャスモン酸応答性 GTR1 輸送体はシロイヌナズナ (*Arabidopsis*) でのジベレリンを介した雄
ずいの発達に必要な

<https://www.natureasia.com/ja-jp/ncomms/abstracts/62144>

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。