

令和 3 年 4 月 30 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17H03695

研究課題名(和文) ペプチドホルモン経路と低分子ホルモン経路の干渉を介した発生・成長システムの解明

研究課題名(英文) Coordination of plant development by peptide hormone pathways and phytohormone pathways.

研究代表者

打田 直行(Uchida, Naoyuki)

名古屋大学・遺伝子実験施設・教授

研究者番号：40467692

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、ペプチド性の細胞外分泌リガンドであるEPFLファミリーとその受容体であるERファミリー経路によって調節される未報告の形態・成長現象を見出した上で、EPFLファミリー・ERファミリー経路の下流で調節される低分子ホルモン経路を同定し、そのホルモン経路とEPFLファミリー・ERファミリー経路の関係を解析することを目指した。その結果、EPFLファミリーとERファミリーの中で、葉脈形成に関わりオーキシン応答を調節する因子群や花器官の発生に関わりジベレリン応答を調節する因子群を同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

新しいリガンドと受容体のペアの同定とその役割の解析を行い、実際に新しい機能を発見した本研究は、過去に未報告の細胞間コミュニケーションの提唱につながり、発生学上の独創的な発見となる。また、低分子性の植物ホルモン群は多様な現象に同時に影響を与え得る強い生理活性を持つことから、調和した発生・成長の各々の現象においてはその働きを局所的に必要な最小限にだけ微調節する必要が生じるはずだが、本研究によりその精密調節の仕組みの一端が見えてきたことは学術的にも意義深く、植物の生産性向上を目指す応用につながることも期待される。

研究成果の概要(英文)：This study aimed to identify previously unreported phenomena regulated by the EPFL ligand family members and their receptors, ER family proteins. We also investigated plant hormone pathways that are regulated downstream of the EPFL and ER family pathway. As a result, we identified EPFL family members and ER family members that control the auxin pathway for leaf vein formation and those that control the gibberellin pathway for the robust development of floral organs under fluctuating temperatures.

研究分野：植物発生遺伝学

キーワード：ペプチドホルモン 低分子ホルモン 受容体

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

植物は様々な細胞群が協調して機能することで1個体としての調和した生育を行う多細胞生物であり、それら各種細胞群の間での様々な情報のやりとりが必須となる。その細胞間コミュニケーションでは、「ある細胞から分泌されるシグナル分子(リガンド)が別の細胞で受容体によって受容される」というリガンド・受容体ペアによる制御が重要な働きをする例が多い。しかし、そのようなリガンド・受容体ペアによる制御を支える分子機序が解明された例はまだ少なく、その中でも、複数の細胞間シグナル情報を秩序立てて処理する仕組みに関する知見は圧倒的に不足しており、その解明が待たれている。

これまでに研究代表者は、シロイヌナズナの ERECT (ER) 受容体ファミリーに焦点を当てた研究を展開してきた。ER ファミリーは ER、ERL1、ERL2 の3つの類似した受容体で構成され、様々な組み合わせで機能冗長的に働くことで、複数の発生現象で異なる役割を果たすことが分かっている。また、ER ファミリーは受容体であるので、各現象でのリガンドの存在が期待されたが、これまでに葉の鋸歯の成長制御、花茎の伸長制御に関しては研究代表者がそれらの同定に成功している。これら同定したリガンドは全て、類似した11個の分泌型ペプチドホルモンで構成される EPFL ファミリーに属しているが、この EPFL ファミリーには、未だ機能が解明されていない因子も複数含まれている。

また、興味深いことに、ER ファミリーが関わる発生現象の各々では、受容体経路の下流で各々異なる低分子性の植物ホルモンの働きに変化が生じることも分かってきた。例えば、鋸歯の成長では ER ファミリー経路の下流で植物ホルモンの1つであるオーキシンに対する反応性が変化し、結果として鋸歯の成長が調節される。また、二次成長においては、ER ファミリー経路の下流で植物ホルモンのジベレリンへの反応性が変わる結果、繊維細胞の分化が調節される。このような、植物のペプチドホルモン経路からの低分子性ホルモン経路への干渉という現象における分子機序に切り込んだ研究例は少ない。すなわち、研究代表者が見出してきた ER ファミリー経路から各種低分子性ホルモン経路への干渉という事象は、その解明へ向けた一歩目のモデルケースとなると期待している。

### 2. 研究の目的

上記の背景・経緯を受け、本研究では、まずは ER ファミリー経路を介した細胞間コミュニケーションによる様々な形態・成長制御をさらに開拓するために、EPFL ファミリーと ER ファミリー経路によって調節される未報告の形態・成長現象を見出す。その上で、その制御過程において EPFL ファミリー・ER ファミリー経路の下流で調節される低分子ホルモン経路を同定し、そのホルモン経路と EPFL ファミリー・ER ファミリー経路の関係を解析する。

### 3. 研究の方法

(1) EPFL ファミリーに属する機能未解明の因子群の変異体、または、複数の因子が機能冗長的に働くと予想される場合はそれらの多重変異体を作成し、EPFL ファミリーメンバーの関わる過去に未報告の現象を発見する。また、それら未報告の現象を発見するための手がかりとして、EPFL ファミリーメンバーそれぞれの植物体における発現部位を解析する。その上で、変異体においてその発現部位に注目した観察を行うことで、変異体で生じている異常に気づきやすくなることも期待している。

(2) ER ファミリーメンバーの単独変異体や多重変異体は全て手元に所有しているので、(1)で EPFL ファミリーメンバーの関わる新現象が見えてきた場合には、ER ファミリーの各種の変異体の中でそれに関連する表現型の有無を調べる。リガンド側と受容体側で同じ表現型が見えた場合は、過去に未報告の新しい細胞間コミュニケーションの存在を発見したことになる。

(3) 上で同定したシグナル経路の下流で低分子ホルモン経路の働きが調節されているかどうかに着目した解析を行う。

(4) 上の作業は、基本的には通常の植物栽培条件で行うことを基本とするが、そのような栽培条件では EPFL ファミリーと ER ファミリーの各種の変異体で新たな表現型が見出せない場合も想定できる。そこで、普段の植物栽培で用いている通常培地条件・通常栽培条件から環境を変化させた条件でも変異体を育て、何かしらの環境ストレス時に初めて見えてくる表現型を探索する。これは、EPFL ファミリーと ER ファミリーの働きの中でも、過去に見過ごされてきたような、環境応答における機能の同定につながると期待している。

### 4. 研究成果

(1) 過去に発現パターンが報告されていなかった EPFL ファミリーの各因子に関して、そのプロモーター活性を GUS タンパク質の活性として青色で可視化できるプロモーター解析を行った。特徴的な発現パターンが見えた因子の1つは、葉脈(葉の維管束)で特異的に発現する因子であった(図1)。このことは、EPFL ファミリーと ER ファミリーが葉脈に関わる何らかの現象に関

わる可能性を示唆していた。

そこで、ER ファミリーの各種の組み合わせの変異体の葉脈を観察したところ、葉脈形成に異常が生じている変異体が見つかった(図2)。具体的には、葉脈が途切れたり、葉脈の形成される方向が異常になっていた。葉脈の途切れを詳細に観察すると、葉脈を生み出す源となる前形成層はつながったままで、その前形成層から生み出される道管が途切れていた。すなわち、EPFL ファミリーと ER ファミリーは葉脈の中でも道管を生み出す制御と葉脈を形成する方向の制御に関わることが明らかとなった。また、この経路の制御下では植物ホルモンのオーキシンの反応が調節されていることも見出した。



図1 葉脈で特異的に発現する EPFL ファミリーメンバーの例

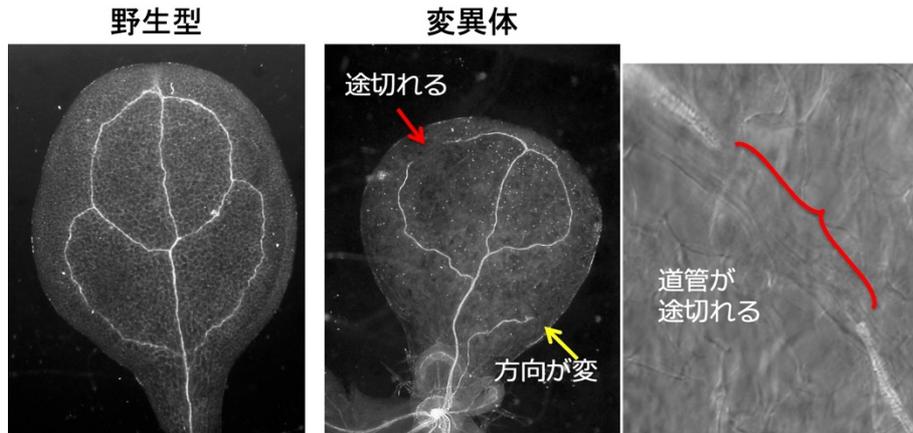


図2 ER ファミリーの変異体の中で、葉脈形成に異常が生じる変異体が見つかった。

(2) EPFL ファミリーの各メンバーの変異体を収集・作成し、各々を通常条件や環境変化条件下で栽培させたところ、用いた変異体コレクションの中で、温度を変化させた場合にのみ種を付けないようになる変異体を発見した(図3)。種を付けない原因を調べるために花を詳しく観察したところ、この変異体では、温度を変動させた条件でのみ花器官の発生に異常が生じることが明らかとなった。そこで、ER ファミリーの各種の組み合わせの変異体でも同様の観察を行ったところ、上の EPFL ファミリーの変異体と同じ花器官の発生で異常を持つものが見つかった。すなわち、EPFL ファミリーと ER ファミリーは温度が変動する環境下で花発生を頑強に達成するために必須なシグナル経路であると考えられる。この制御の際に EPFL ファミリーが生まれる必要のある部位を探索したところ、花器官の中でもまさに異常が生じている部位で発現する様子が観察され、逆に、その部位に特異的なプロモータを用いてその EPFL ファミリーの機能を回復させる部位特異的機能回復実験を行ったところ、変異体で生じていた異常が回復し、通常通りの種を含むさやを作ることになった。

次に、この EPFL ファミリー・ER ファミリー経路の制御下で活性が調節される植物ホルモンが存在する可能性を考え解析を進めたところ、これらの変異体ではジベレリンの作用が低下していることが示唆された。そこでジベレリンを外部から補いながら栽培する実験を行ったところ、変異体で見られていた異常が大きく回復し、通常通りの種を付けた。この結果は、この EPFL ファミリー・ER ファミリー経路には温度環境の変動時にジベレリンの生合成を促進する働きがあることを強く示唆するものである。

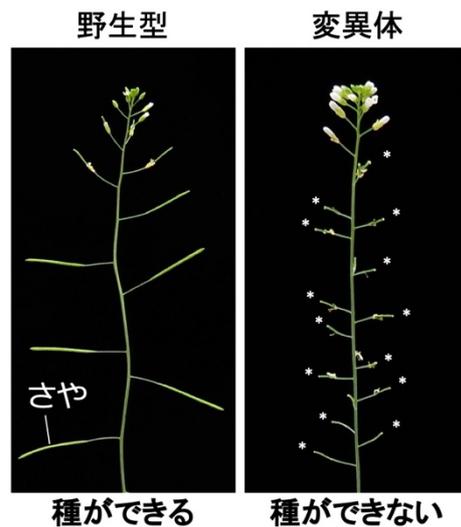


図3 EPFL ファミリーの変異体の中で、温度環境を変化させた場合にのみ種を付けない変異体が見つかった。上の写真は野生型では種を含むさやが花茎に形成される条件で、変異体ではアスタリスクで示すように種を付けずにさやも成長しなかった様子を示す。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 13件 / うち国際共著 13件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Uchida N and Torii KU	4. 巻 76
2. 論文標題 Stem cells within the shoot apical meristem: Identity, arrangement and communication.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cell. Mol. Life Sci.	6. 最初と最後の頁 1067-1080
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00018-018-2980-z	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 Kimura Y, Tasaka M, Torii KU and Uchida N	4. 巻 145
2. 論文標題 ERECTA-family genes coordinate stem cell functions between the epidermal and internal layers of the shoot apical meristem.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Development	6. 最初と最後の頁 dev156380
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1242/dev.156380	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 Hirakawa Y, Torii KU and Uchida N	4. 巻 8
2. 論文標題 Mechanisms and strategies shaping plant peptide hormones.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Plant Cell Physiol.	6. 最初と最後の頁 1313-1318
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/pcp/pcx069	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10件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Uchida N
2. 発表標題 Versatile control of growth and development by ERECTA-family receptor signaling
3. 学会等名 Plant Peptides & Receptors 2017 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Nakashima Y, Kumamoto D, Endo H, Tasaka M, Torii KU, Uchida N
2. 発表標題 Functions of ERECTA-family receptor kinases in Arabidopsis leaf vein formation
3. 学会等名 日本植物生理学会年会第59回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kimura Y, Tasaka M, Torii KU, Uchida N
2. 発表標題 ERECTA-family receptors coordinate layer-specific stem cell maintenance in the shoot apical meristem
3. 学会等名 日本植物生理学会年会第59回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 打田直行
2. 発表標題 篩部で作動する地上部器官の成長・環境対応経路
3. 学会等名 日本植物学会第83回大会
4. 発表年 2019年

〔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			
米国	テキサス大学			
ドイツ	ハインリッヒハイリ大学			