

機関番号：11301

研究種目：基盤研究 (B)

研究期間：2008～2011

課題番号：20370017

研究課題名 (和文) 植物の乾燥環境適応に寄与する水分屈性分子機構の解明

研究課題名 (英文) Molecular mechanism for hydrotropism that plays a role in plant adaptation to arid environment

研究代表者

高橋 秀幸 (TAKAHASHI HIDEYUKI)

東北大学・大学院生命科学研究科・教授

研究者番号：70179513

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・植物分子生物・生理学

キーワード：環境応答、水分屈性、MIZUKUSSEI, オルガネラ、シロイヌナズナ、ヒメツリガネゴケ、キュウリ、オーキシン

1. 研究計画の概要

本研究では、植物が乾燥環境適応戦略として獲得した根の水分屈性を制御する分子の同定と機能解析を行い、それら分子のネットワーク機構を明らかにし、これまでに未知であった水分勾配感受とそのシグナル伝達に関するモデルを構築することを目的としている。そのために本研究では、これまでに同定した水分屈性に必須かつ特異的な制御分子である MIZ1 の機能とともに、MIZ2 が支配する水分屈性に特異的な小胞輸送系を明らかにする研究を行っている。また、*miz1* および *miz2* に加えて、これまでに単離することに成功した水分屈性欠損突然変異体 *miz3* の変異原因遺伝子の同定を行うとともに、新規の水分屈性突然変異体を単離し、それらの変異原因遺伝子を同定し、それらがコードするタンパク質の機能を明らかにするための研究を行っている。さらに、これら水分屈性制御分子間の関係を解析することによって、根が水分勾配を感受して伸長方向を決定するまでの分子機構の全体像を明らかにするための基盤研究を行っている。

2. 研究の進捗状況

MIZ1 遺伝子に関して、MIZ1-GFP 融合タンパク質を発現するシロイヌナズナ形質転換植物体の作出を行い、*miz1* 変異を相補する系統を得た。これを用い MIZ1-GFP 融合タンパク質の発現部位および細胞内局在を解析した結果、根において MIZ1-GFP は水分屈性に必須の役割を果たすと考えられるコルメラ細胞とその周縁部、ならびに屈曲部位の皮層細胞の細胞質に存在することが明らかになった。MIZ1 のこれら環境刺激に対す

る応答を解析したところ、MIZ1 の局在は水分屈性発現時に変化しなかった。一方、暗所芽生えでは、根冠における MIZ1 の消失がみられた。この根冠における局在は暗所芽生えに水分勾配刺激を与えても変動しなかったが、光形態形成を誘導する白色光、青色光を照射することで、みられるようになった。さらに、光が水分屈性に与える影響を解析したところ、水分屈性は暗所で顕著に抑制された。以上の結果から、水分屈性が光制御を受け、それを MIZ1 が担うことが明らかになった。

MIZ1 の機能解明を進めるために、MIZ1 過剰発現系統を作出して、その表現型を解析した結果、MIZ1 遺伝子発現レベルの改変により水分屈性能が亢進されることがわかった。また、*miz1* 突然変異体の水分屈性を回復させる、*miz1* 抑圧突然変異体 (*miz1-supressor*; *mzp*) 候補系統を得た。

ヒメツリガネゴケに見いだされる MIZ1 相同遺伝子 (*PpMILs*) の解析を行ない、それらのノックアウト個体の作出に成功した。さらに各 *PpMILs* を導入したシロイヌナズナ *miz1* 変異を作出した。

GNOM/MIZ2 の動態を GFP 融合タンパク質および膜染色マーカーを用いて解析したところ、*gnom^{miz2}* は正常な小胞形成機能を有することが示唆された。さらに、GNOM が制御する小胞輸送により細胞内局在が制御される PIN1 の局在を *miz2* において解析したところ、野生型と *miz2* とで差異がみられなかったことから、*gnom^{miz2}* は PIN1 の局在を担う小胞輸送系を正

常に制御することがわかった。また、GNOMが制御する水分屈性制御系に機能する分子を分子遺伝学的に同定するため、*miz2*抑圧突然変異体の単離を試み、抑圧突然変異体を得ることに成功した。

新たな水分屈性制御分子の同定を目指し、水分屈性欠損突然変異体*miz3*の変異原因遺伝子の同定を試みた結果、*miz3*は*miz1*と比べて水分屈性の欠損程度が弱い変異体であり、*miz3*が*miz1*のアリル変異体であること、*MIZ1*のORF中に2か所の塩基置換が存在することを見出した。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

(理由)

上述のように、計画した主な項目については概ね順調に研究が進んでおり、それらによって得られた知見を基盤にした研究をさらに進めることで、水分屈性の分子機構を解明できるだけでなく、それを応用した根の成長制御法の開発にもつながる成果を得ている。

4. 今後の研究の推進方策

平成 23 年度は本研究の最終年度にあたることから、これまでの研究で得た知見・ツールを用いて、*MIZ1* および *MIZ2* の機能解析を進めて水分屈性の分子機構に関するモデルを構築するとともに、これらの分子機構の自然界における役割を理解し、乾燥環境下での生態系マネージメントあるいは効率的な植物生産のための根の成長制御法の開発に寄与する基盤研究を行う。

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 10 件)

1. Moriwaki T, Miyazawa Y, Takahashi H (2010) Transcriptome analysis of gene expression during the hydrotropic response in Arabidopsis seedlings. *Environmental and Experimental Botany* 69: 148-157 査読有り
2. Sakata T, Oshino T, Miura S, Tomabeche M, Tsunaga Y, Higashitani N, Miyazawa Y, Takahashi H, Watanabe M, Higashitani A (2010) Auxin reverses plant male sterility caused by high temperatures. *PNAS* 107: 8569-8574 査読有り
3. Miyazawa Y, Takahashi A, Kobayashi A, Kaneyasu T, Fujii N, Takahashi H (2009) GNOM-mediated vesicular trafficking plays an essential role in hydrotropism of Arabidopsis roots. *Plant Physiol* 149: 835-840 査読有り

4. Takahashi H, Miyazawa Y, Fujii N (2009) Hormonal interactions during root tropic growth: hydrotropism versus gravitropism. *Plant Mol Biol* 69: 489-502 査読有り

5. Miyazawa Y, Sakashita T, Funayama T, Hamada N, Negishi H, Kobayashi A, Kaneyasu T, Ooba A, Morohashi K, Kakizaki T, Wada S, Kobayashi Y, Fujii N, Takahashi H (2008) Effects of locally targeted heavy-ion and laser microbeam on root hydrotropism in Arabidopsis thaliana. *J Rad Res* 49: 373-379 査読有り

[学会発表] (計 45 件)

1. Yamazaki T, Kobayashi A, Miyazawa Y, Takahashi H. Biochemical analysis of *MIZ1*, an essential protein for hydrotropism in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Biology* 2010, Montreal, Canada. July 31 – August 4, 2010
2. Moriwaki T, Miyazawa Y, Kobayashi A, Uchida M, Fujii N, Takahashi H. Hormonal regulation of lateral root development is modulated by overexpression of *MIZ1*. 21st International Conference on Arabidopsis Research, Yokohama, June 6 - 10, 2010
3. Miyazawa Y, Fujii N, Takahashi H: Identification of genes responsible for root hydrotropism in Arabidopsis roots. *Plant Biology* 2009. Hawaii Convention Center, Honolulu, Hawaii, USA. July 18-22, 2009
4. Takahashi H, Miyazawa Y, Kobayashi Y, Moriwaki T, Uchida M, Fujii N. Genetic evidence for mechanisms unique to hydrotropism but independent of gravitropism in Arabidopsis roots. International Symposium on Plant Sensing, Response and Adaptation to Altered Water Status. March 12-13, 2009, Taipei, Taiwan.
5. Morohashi K, Kobayashi A, Miyazawa Y, Fujii N, Takahashi H. Molecular mechanisms responsible for interaction or differentiation between hydrotropism and gravitropism in roots. 37th COSPAR Scientific Assembly. July 13 – 20, 2008. Montreal, Canada.
6. Takahashi H, Miyazawa Y, Fujii N. Mechanisms unique to hydrotropism in seedling roots. 4th Plant Neurobiology Conference. June 6 – 9, 2008. Fukuoka

[図書] なし

[産業財産権] なし

[その他] なし