

令和 6 年 6 月 26 日現在

機関番号：82104

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H02158

研究課題名（和文）根の成長制御におけるアブシジン酸の新しい役割

研究課題名（英文）A new role for abscisic acid in the regulation of root growth.

研究代表者

藤田 泰成 (Fujita, Yasunari)

国立研究開発法人国際農林水産業研究センター・食料プログラム・プログラムディレクター

研究者番号：00446395

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 12,800,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、ABAシグナル因子の多重欠損変異体およびDR5-GUSやDR5-LUCを導入した遺伝子組換えシロイヌナズナを用いた解析により、乾燥ストレス応答を担うABAシグナル伝達因子が、成長制御を担うオーキシンのシグナル伝達系とのクロストークを介して側根成長を制御する機構を明らかにした。また、関連研究において、ABAシグナルや成長制御と関わる新規の植物のストレス応答に関わる知見を得た。さらに、ストレス応答に好適な実験系としてキヌアを用いた研究基盤の構築に取り組んだ。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、側根制御におけるABAの新しい役割に着目し、ABAシグナル伝達因子の側根制御における分子機構の一端を明らかにした。トレードオフの関係にある植物の「ストレス応答」と「成長」を制御する分子機構の解明に寄与することにより、ストレス時における植物の新たな生存戦略を理解し、実用的なストレス耐性作物開発の一助となる知見を得た。また、関連したストレス応答研究や新たな研究プラットフォームの構築を通して、植物のストレス応答研究の発展に貢献し、気候変動下における将来の食料安全保障への貢献を目指す。

研究成果の概要（英文）：In this study, we revealed the mechanism by which ABA signaling factors responsible for drought stress responses control lateral root growth through crosstalk with the auxin signaling system that regulates growth control by using multiple knockout mutants of ABA signaling factors and genetically modified *Arabidopsis thaliana* introduced with DR5-GUS or DR5-LUC. In a related study, we also gained insights into novel plant stress responses involving ABA signaling and growth regulation. In addition, we established a research platform using quinoa as a suitable experimental system for stress response.

研究分野：植物分子生物学

キーワード：アブシジン酸 オーキシシン 側根 ストレス

1. 研究開始当初の背景

アブシジン酸 (ABA) とオーキシンは、複雑なシグナル伝達ネットワークを通じて、水分欠乏条件下における主根と側根の成長と発達に重要な役割を果たしている。オーキシンは側根の成長と発達を促進することがよく知られており、その分子機構の詳細が明らかにされている。対照的に、高濃度の ABA は主根と側根の両方の発生と成長を抑制し、低濃度の ABA は浸透圧ストレスに応答して主根の伸長を促進する。これまでの解析から、ABA シグナル伝達はオーキシンシグナル伝達と拮抗的にも相乗的にも相互作用することが示唆されている。しかしながら、根の成長制御における ABA の作用メカニズムに関する知見は限定的であり、ABA とオーキシンシグナルの相互作用には、未だ不明な点が多い。

2. 研究の目的

我々は、植物の乾燥ストレス応答の引き金となるアブシジン酸 (ABA) が遺伝子発現を制御する機構について、主にモデル植物のシロイヌナズナを用いて研究を進めてきた。ABA のコアシグナル伝達因子に注目した解析の中で、ABA が側根の成長制御において、新たな役割を担う可能性が示唆される現象を見いだした。本研究では、我々が見いだした新知見に基づき、乾燥ストレス応答を担う ABA シグナル伝達因子が、成長制御を担うオーキシンのシグナル伝達系とのクロストークを介して側根成長を制御する機構を明らかにすることを目的とする。これにより、「ストレス応答」と「成長」のバランスを考慮した実用的な不良環境耐性作物の作出へ向けた研究基盤を確立する。

3. 研究の方法

本研究では、シロイヌナズナを材料として、これまでに作出した ABA シグナル因子の多重欠損変異体および DR5-GUS や DR5-LUC を導入した遺伝子組換えシロイヌナズナを用いて、ABA 条件下における根の伸長解析、レポーターを用いたイメージング解析、プロトプラストを用いた一過的発現解析や RNA-seq 解析を行った。

4. 研究成果

(1) ABA 添加培地における ABA シグナル伝達因子変異体の側根成長解析

ABA シグナル伝達の主要因子の多重変異体群を用いて、根の表現型解析を行った。播種後 4 日目の幼苗を ABA 添加培地 (0, 5, 20 μM 濃度) へ移植し、その後 6 日目 (播種後 10 日目) の根の形態を計測した。主根の生育は、既知の ABA に対する感受性と同様の結果を示した (図 1)。つまり、ABA を正に制御する因子は、ABA 培地条件における主根の伸長阻害が緩和された。一方で、側根の応答は、主根の応答とは一致しないケースがあることを明らかにした (図 1)。そこで、主根の応答と一致する因子 A と、一致しない因子 B のホモログ遺伝子に着目し、それらの多重変異体を用いた解析を進めた。

(2) ABA シグナル伝達因子の根組織における特異的な遺伝子発現解析

着目した因子 B 群について、各遺伝子のプロモーター: GUS 形質転換植物を作出し、根における発現パターンを解析した。これらの遺伝子は、地上部および地下部の両方で発現しており、根においても顕著に発現していた。一方で、側根の形成領域ではほとんど発現しておらず、

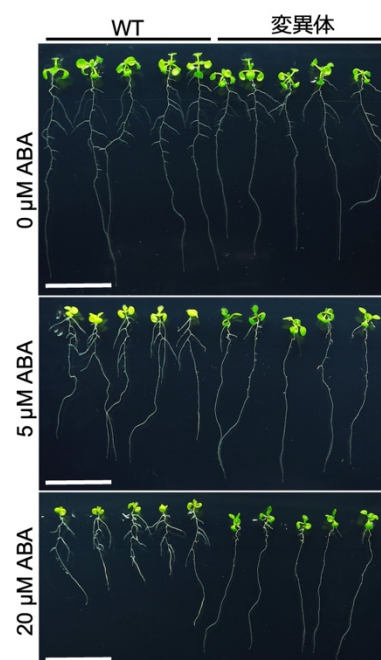


図 1. 野生株および変異体の根の表現型

形成後の伸長領域で高発現すること、その発現パターンや強度は、ホモログ間で異なることを明らかにした。また、培地に添加した ABA は、伸長領域における因子 B 群の遺伝子発現には大きな影響を与えないことを確認した。以上の結果から、着目した ABA シグナル伝達因子は側根の伸長領域において生理学的役割を担う可能性が示唆された。

(3) ABA シグナル伝達因子変異体を用いたオーキシシン応答性のイメージング解析

ABA シグナル因子とオーキシシン応答を解析するため、交配により ABA シグナル伝達因子の多重変異体に DR5-LUC 配列を導入した形質転換植物を作出した。これらの植物を用いて、ABA 存在下におけるオーキシシン応答の経時的な解析を行なった。DR5-LUC の輝度は、ABA 処理により、野生株と多重変異体の両方で低下した。ABA 処理によりオーキシシン応答が低下することを示す本結果は、既知の報告と一致する。一方、多重変異体は、野生株と比較して常に輝度が低い値を示した。このことは、ABA シグナルに関わる遺伝子群 B が、外因性の ABA 添加時において、主根のオーキシシン応答を正に制御することを示唆している。一方で、DR5-LUC のサイト数は、ABA 処理により、野生株と多重変異体の両方で減少したが、野生株と多重変異体の間に有意な差は見られなかった。これらの結果から、ABA シグナル伝達因子は、側根形成ではなく、側根の成長制御に関与する可能性が示唆された。

(4) 葉肉プロトプラスト一過的発現系を用いた、オーキシシン応答における ABA シグナル因子の役割

ABA シグナル伝達因子 B 群がオーキシシン応答遺伝子とクロストークする分子メカニズムを明らかにするため、シロイヌナズナ葉肉細胞のプロトプラストを用いた一過的発現解析を実施した。ABA シグナル伝達因子 B 群は、オーキシシン応答配列を活性化することを明らかにした。また、側根形成に関与する遺伝子群のプロモーター配列の下流に GUS 遺伝子を連結したコンストラクトを作成し、同様の一過的発現解析を実施した。その結果、ABA シグナル伝達因子 B 群は、側根において発現が顕著に誘導される遺伝子のプロモーター配列を活性化することを明らかにした。これらの結果から、ABA シグナル因子 B 群は、オーキシシン応答や側根制御遺伝子の発現を介して側根の制御に関わる可能性が示唆された。

(5) 根における RNA-seq 解析

着目した ABA シグナル因子 A および B の下流で、根のオーキシシン応答や側根制御遺伝子に関与する遺伝子群を明らかにするため、RNA-seq 解析を実施した。ABA シグナル因子 A および B の多重変異体および野生株について、ABA (ABA 0, 5, 20 μ M 添加培地条件) 処理を行い、根から抽出した RNA を解析に用いた。野生株と変異体間において、複数のオーキシシン応答遺伝子の発現に差異があることを確認した。これらの結果から、ABA シグナル因子 A および B 群は、根におけるオーキシシン応答や側根制御遺伝子の発現に影響を与えることを明らかにした。

(6) ABA シグナル伝達系発展関連研究

干ばつストレス応答解析システムを用いて、乾燥ストレス応答時に ABA シグナル伝達系より早い段階でリン酸欠乏応答が活性化されることを示した。また、ABA を介したシグナル伝達系の研究をさらに進めるために、シロイヌナズナに比べて、より過酷な環境に適応しているキヌアの研究基盤の構築に着手し、異なった 2 系統の精密ゲノムの解読などを行った。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Kobayashi Yasufumi, Hirakawa Hideki, Shirasawa Kenta, Nishimura Kazusa, Fujii Kenichiro, Oros Rolando, Almanza Giovanna R., Nagatoshi Yukari, Yasui Yasuo, Fujita Yasunari	4. 巻 0
2. 論文標題 Chromosome-level genome assemblies for two quinoa inbred lines from northern and southern highlands of Altiplano where quinoa originated	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 bioRxiv	6. 最初と最後の頁 1-36
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1101/2024.06.10.598385	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Nagatoshi Yukari, Ikazaki Kenta, Kobayashi Yasufumi, Mizuno Nobuyuki, Sugita Ryohei, Takebayashi Yumiko, Kojima Mikiko, Sakakibara Hitoshi, Kobayashi Natsuko I., Tanoi Keitaro, Fujii Kenichiro, Baba Junya, Ogiso-Tanaka Eri, Ishimoto Masao, Yasui Yasuo, Oya Tetsuji, Fujita Yasunari	4. 巻 14
2. 論文標題 Phosphate starvation response precedes abscisic acid response under progressive mild drought in plants	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 1-16
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-023-40773-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Nagatoshi Yukari, Ikazaki Kenta, Kobayashi Yasufumi, Mizuno Nobuyuki, Sugita Ryohei, Takebayashi Yumiko, Kojima Mikiko, Sakakibara Hitoshi, Kobayashi Natsuko I., Tanoi Keitaro, Fujii Kenichiro, Baba Junya, Ogiso-Tanaka Eri, Ishimoto Masao, Yasui Yasuo, Oya Tetsuji, Fujita Yasunari	4. 巻 0
2. 論文標題 Phosphate starvation response precedes abscisic acid response under progressive mild drought in plants	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 bioRxiv	6. 最初と最後の頁 1-61
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1101/2021.07.28.453724	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 藤田泰成, 豊島真実, 小林安文, 藤田美紀, 小賀田拓也, 白澤健太, 平川英樹, 永利友佳理, 安井康夫
2. 発表標題 キヌア：優れた栄養特性と過酷な環境への適応力を持つ新たなモデル実験植物
3. 学会等名 第46回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 永利友佳理, 伊ヶ崎健大, 小林安文, 水野信之, 杉田亮平, 竹林裕美子, 小嶋美紀子, 榊原均, 小林奈津子, 田野井慶太郎, 藤井健一郎, 馬場隼也, 小木曾映里, 石本政男, 安井康夫, 大矢徹治, 藤田泰成
2. 発表標題 乾燥ストレス初期の植物においてABAより早く誘導されるリン酸欠乏応答
3. 学会等名 第46回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 永利友佳理, 伊ヶ崎健大, 小林安文, 水野信之, 杉田亮平, 竹林裕美子, 小嶋美紀子, 榊原均, 小林奈通子, 田野井慶太郎, 藤井健一郎, 馬場隼也, 小木曾映里, 石本政男, 安井康夫, 大矢徹治, 藤田泰成
2. 発表標題 圃場の軽度の干ばつにおけるダイズの応答
3. 学会等名 日本育種学会第144回講演会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 小林 安文、豊島 真実、藤田 泰成
2. 発表標題 キヌア系統の高塩環境におけるナトリウムイオン集積機構
3. 学会等名 日本土壌肥料学会2022年度東京大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小賀田 拓也、石崎 琢磨、藤田 美紀、藤田 泰成
2. 発表標題 OsERA1遺伝子改変イネの乾燥ストレス応答の解析
3. 学会等名 日本植物バイテクノロジー学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Nagatoshi, Y., Mizuno, N., Ikazaki, K., Oya, T., Yasui, Y., Ogiso-Tanaka, E., Ishimoto, M., Fujita, Y.
2. 発表標題 Transcriptome analysis of soybean responses to water deficit conditions in the field
3. 学会等名 10th Asian Crop Science Association Conference (国際学会)
4. 発表年 2021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
研究 分担者	深城 英弘 (Fukaki Hidehiro) (80324979)	神戸大学・理学研究科・教授 (14501)	
研究 分担者	永利 友佳理 (Nagatoshi Yukari) (90723859)	国立研究開発法人国際農林水産業研究センター・生物資源・ 利用領域・プロジェクトリーダー (82104)	

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