

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 19 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23370025

研究課題名(和文) ストリゴラクトンの多様なホルモン機能の解析

研究課題名(英文) Studies on various hormonal functions of strigolactones

研究代表者

山口 信次郎 (Yamaguchi, Shinjiro)

東北大学・生命科学研究科・教授

研究者番号：10332298

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,400,000円、(間接経費) 4,320,000円

研究成果の概要(和文)：リン欠乏などの貧栄養によりストリゴラクトンの生産量は増大する。ストリゴラクトンはそのような貧栄養条件で誘導されるシロイヌナズナのロゼット葉の老化誘導に関与することが示された。すなわち、ストリゴラクトン欠損変異体の老化は野生型と比較して遅延し、この表現型はストリゴラクトンアナログの投与により相補された。一方、若い葉においては、ストリゴラクトン処理により緑化の促進(クロロフィル含量の増大)が認められた。以上の結果から、ストリゴラクトンは、古い葉の老化を促進するとともに若い葉の緑化を促すことが示された。

研究成果の概要(英文)：Strigolactone production is increased under phosphate-deficient conditions. Under such nutrient conditions, leaf senescence was shown to be delayed in rosette leaves of strigolactone-deficient *Arabidopsis* mutants. This phenotype was complemented by application of strigolactone. In contrast, in young rosette leaves, strigolactone induced greening (an increase in chlorophyll levels). These results indicate that strigolactones promote senescence in old leaves, while they induce greening in young leaves.

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：植物 生理活性 発生・分化 生体分子

1. 研究開始当初の背景

ストリゴラクトンは、4つの環をもつテルペノイド化合物である。ストリゴラクトンは最初に、根寄生植物の種子発芽を極めて低濃度で促進する物質として、植物の根の滲出液中から発見された。その後、ストリゴラクトンは、植物の無機栄養吸収を助けるアーバスキュラー菌根菌との共生に関わる化学シグナルとして同定された。以上の発見から、ストリゴラクトンは根から根圏に分泌され、アレロケミカルとして他の生物との相互作用に関わることが明らかになった。しかしながら、ストリゴラクトンの植物自身における役割は不明であった。

その後の研究により、ストリゴラクトンは内生のホルモンとして地上部の枝分かれを抑制することが明らかになった。この新しい枝分かれ抑制ホルモンの存在は、枝分かれが過剰に形成されるシロイヌナズナの *more axillary growth (max)* 等の突然変異体の解析からその存在が示唆されていた。同様の枝分かれ過剰変異体として、エンドウの *ramosus (rms)*、ペチュニアの *decreased apical dominance (dad)*、イネの分けつ矮性 *dwarf (d)* 変異体が挙げられる。

これらの突然変異体は、枝分かれの過剰性以外にも、葉の形態異常や老化の遅延、種子発芽の低下などの表現型を示すことが報告されている。例えば、F-box タンパク質が欠損し、ストリゴラクトン非感受性である *max2* 変異体は、老化が遅延する変異体 *ore9* としても単離されている。MAX2/D3 は、ストリゴラクトンの情報伝達の鍵因子と考えられ研究が進められているが、*max2/d3* 変異体においては SL 生合成変異体には見られない付加的な表現型が観察される。*max2* は胚軸が徒長し、発芽能はストリゴラクトン生合成変異体 (*max1, 3, 4*) よりも低下している。また、*max2* のロゼット葉の葉柄は *max1, 3, 4* よりも明らかに長い。イネ *d3* の暗所芽生えでは、ストリゴラクトン欠損 *d* 変異体と比較してメソコチルが異常に伸長する。一方、 α/β -ヒドロラーゼファミリーに属するイネ D14 の欠損変異体は、*d3* と同じように SL 非感受性であるが、ストリゴラクトン生合成変異体と同様の表現型を示す。また、シロイヌナズナの *d14* 変異体 (*Atd14*) は、*max2* と同様に枝分かれ過剰性を示し、ストリゴラクトン非感受性であるが、*max2* と異なり胚軸は徒長しない。また、葉の形態も *max2* ではなく、*max1, 3, 4* に酷似している。

2. 研究の目的

以上、述べたように *max/d* 変異体の枝分かれ過剰性以外の表現型は、F-box 変異体である *max2/d3* においてのみ、あるいは *max2/d3* においてより顕著に認められる場合がある。したがって、ストリゴラクトンの多様なホルモン機能の解析においては、なぜ *max2/d3* だけが付加的な表現型を示すのかを解明するこ

とが一つの鍵になると考えられた。予備的な実験から、 α/β -ヒドロラーゼファミリーのタンパク質である D14LIKE が、*max2* 変異体で付加的にみられる表現型に関与する可能性を見出した。イネ、シロイヌナズナは、ともに D14 と D14LIKE サブファミリーに属する遺伝子を一つずつ持つ。シロイヌナズナ *d14like* 変異体の枝分かれは正常であるが、*max2* のように胚軸が徒長し、発芽能が大きく低下していた。そこで、*d14 d14like* 二重変異体を作成したところ、ロゼット葉の形態を含めて *max2* と酷似した表現型を示すことが明らかになった。D14LIKE は D14 と高い相同性を示すが、D14LIKE は *d14* 変異体の表現型を相補できず、また D14 は *d14like* の表現型を相補できなかった。したがって、両者は異なる機能をもつと考えられる。一方、ストリゴラクトン生合成変異体同士の二重変異体 (*max1 max3* など) はいずれの組み合わせも単一の表現型を強めることは無かった。以上の結果から、*max2/d3* 変異体とストリゴラクトン生合成変異体の表現型の違いは、既存の生合成変異体が leaky であるからではなく、MAX2/D3 が D14 経路と D14LIKE 経路の双方に関わるからではないかと推定した。本研究では、この仮説の検証をさらに進めていくことを一つの目的とした。

一方、申請者らはストリゴラクトンのホルモン機能の発見以来、なぜストリゴラクトンが根圏情報物質と形態制御ホルモンという二つの機能を併せ持つのか、その生物学的意義を考察してきた。その結果、ストリゴラクトンはリンや窒素などの無機栄養の獲得・利用戦略と深く関わるということが明らかになりつつある。すなわち、ストリゴラクトン生産量はリン欠乏により顕著に増大するが、これには (1) 無機栄養吸収を助けるアーバスキュラー菌根菌との共生を活性化する (栄養獲得の強化)、(2) 枝分かれを最小限に止めて限られた栄養分を有効に使う (栄養利用の効率化)、という二つの役割があるのでないかと推定している。実際、イネにおいてはリン欠乏時にストリゴラクトン依存的に分げつが抑制されることが明らかになった。

一方、ストリゴラクトンに関わることを示唆されている「葉の老化」はシンク器官からソース器官への転換を意味しており、貧栄養時には古い葉から新しい器官への栄養分の積極的かつ緊急な供給が必要になると考えられる。すなわち、リン欠乏時に生産されるストリゴラクトンのもう一つの役割は、葉の老化を活性化し、限られた栄養分のリサイクルを効率的に行なうことではないかと予想している。*max2/d3* 変異体で老化が遅延することが報告されているが、ストリゴラクトンと老化の直接の関連性は報告されていない。

以上の予備データと考察に基づき、本研究では葉の老化におけるストリゴラクトンの役割を解明する。とくに、リン欠乏時に生産されるストリゴラクトンが無機栄養の有効

利用戦略として老化誘導を引き起こす可能性について追究する。

3. 研究の方法

(1) 遺伝学的解析により、D14 と D14LIKE がともに MAX2 経路で働くのかどうかを明らかにするため、以下の実験を行った。*max2* 変異体、*d14 d14like* 二重変異体、および *max2 d14 d14like* 三重変異体を作成し、表現型の詳しい解析を行った。また、上記各変異体におけるトランスクリプトーム解析を行い、これらの変異体が遺伝子発現レベルでも類似しているかどうかを調査した。

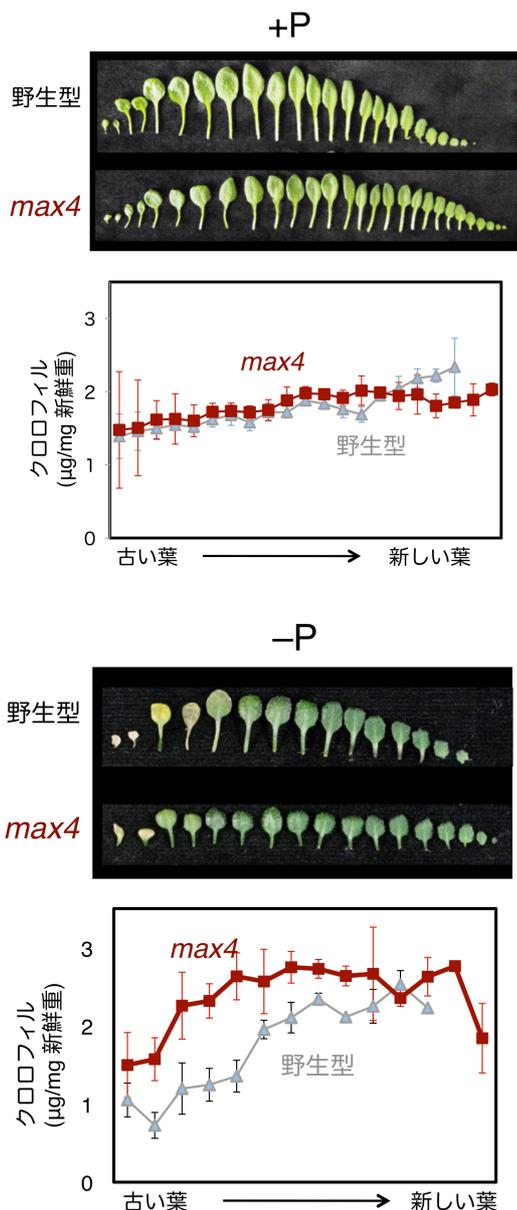
(2) シロイヌナズナのロゼット葉の老化および緑化とストリゴラクトンの関係を明らかにするため、以下の実験を行った。シロイヌナズナをリン酸欠乏およびリン酸を十分に含む寒天培地において短日条件下で栽培後、ロゼット葉を葉序に従って古い葉から順番にサンプリングした。これらのサンプルにおけるクロロフィル含量および老化のマーカー遺伝子である *SAG* 遺伝子の発現量を測定した。また、ストリゴラクトンの影響をより直接的に調べるため、ストリゴラクトンの効果的な投与が容易な水耕栽培を用いて、ストリゴラクトン投与の老化に及ぼす影響を調べた。

4. 研究成果

(1) *d14 d14like* 二重変異体、および *max2 d14 d14like* 三重変異体はいずれも *max2* 変異体と同じような表現型を示した。トランスクリプトーム解析の結果、*max2* 変異体、*d14 d14like* 二重変異体、および *max2 d14 d14like* 三重変異体の遺伝子発現プロファイルは全体的に類似していることが明らかになった。しかしながら、いくつかの遺伝子で発現パターンの違いが見られるなど、完全に同一ではなかった。以上の結果は、D14 と D14LIKE がともに MAX2 経路で働くことを支持すると同時に、D14 と D14LIKE 以外に MAX2 経路で働く第 3 の遺伝子が存在する可能性を示唆している。

(2) ストリゴラクトンの生産量はリン酸欠乏条件において劇的に増加することが知られている。リン酸を十分量含む寒天培地では、ストリゴラクトン欠損変異体である *max4* と野生型の間にクロロフィル含量の大きな違いは認められなかった (図上)。一方、リン酸欠乏条件においては、*max4* 変異体におけるクロロフィル含量が野生型と比較して明らかに多かった (図下)。これらの結果は、リン酸欠乏条件下においては、*max4* 変異体の老化が野生型と比較して遅延していることを示唆している。このことは、老化のマーカー遺伝子である *SAG12* や *SAG24* の遺伝子発現解析からも支持された。以上の結果から、ストリゴラクトンは、リン酸欠乏により誘導される葉の老化促進に必要であることが示された。

次に、水耕栽培した野生型および *max4* 変



異体へのストリゴラクトン投与の効果調べた。ストリゴラクトン合成アナログである (+)-GR5 (1 μ M) の投与により、*max4* の古いロゼット葉の老化遅延の表現型は相補された。すなわち、ストリゴラクトンの投与により老化が促進された。一方、若い葉のクロロフィル含量はストリゴラクトン投与により増加した。以上の結果から、ストリゴラクトンは古い葉の老化を促進する一方、若い葉の緑化を促進することが示された。

5. 主な発表論文等

(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 3 件)

① Ha CV, Leyva-Gonzalez MA, Osakabe Y, Tran UT, Nishiyama R, Watanabe Y, Tanaka M, Seki M, Yamaguchi S, Dong NV, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K,

Herrera-Estrella L, Tran LS. Positive regulatory role of strigolactone in plant responses to drought and salt stress. Proc Natl Acad Sci USA, 査読有, 111 巻 851-856, 2014 年

DOI: 10.1073/pnas.1322135111

②Hu Z, Yamauchi T, Yang J, Jikumaru Y, Tsuchida-Mayama T, Ichikawa H, Takamune I, Nagamura Y, Tsutsumi N, Yamaguchi S, Kyojuka J, Nakazono M. Strigolactone and cytokinin act antagonistically in regulating rice mesocotyl elongation in darkness. Plant Cell Physiol., 査読有, 55 巻 30-41, 2014 年

DOI: 10.1093/pcp/pct150

③Seto Y, Kameoka H, Yamaguchi S, Kyojuka J. Recent advances in strigolactone research: chemical and biological aspects. Plant Cell Physiol., 査読有, 53 巻 1843-1853, 2012 年

DOI: 10.1093/pcp/pcs142

〔学会発表〕(計3件)

①森本優、東大野むつみ、瀬戸義哉、桧垣匠、馳澤盛一郎、山口信次郎、シロイヌナズナのロゼット葉におけるストリゴラクトンの生理作用、第55回日本植物生理学会年会、2014年3月20日、富山

②森本優、東大野むつみ、瀬戸義哉、桧垣匠、馳澤盛一郎、山口信次郎、シロイヌナズナのロゼット葉におけるストリゴラクトンの生理作用、植物化学調節学会 第48回大会、2013年10月31日、新潟

③森本優、瀬戸義哉、山口信次郎、シロイヌナズナのロゼット葉におけるストリゴラクトンの生理作用、植物化学調節学会 第47回大会、2012年10月28日、山形

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況 (計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山口 信次郎 (YAMAGUCHI, SHINJIRO)

東北大学・大学院生命科学研究科・教授

研究者番号: 10332298

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 連携研究者

該当なし