

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 1 日現在

機関番号：13901

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25650095

研究課題名(和文) 篩管内高分子を基盤とする全身性シグナル伝達機構の研究

研究課題名(英文) Study on plant systemic signaling via phloem

研究代表者

野田口 理孝 (Notaguchi, Michitaka)

名古屋大学・理学(系)研究科(研究院)・研究員

研究者番号：00647927

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：植物は篩管を介してmRNAやタンパク質などの高分子を長距離輸送し、それら高分子のもつ働きによって、離れた器官間で情報伝達を行い、周囲の環境に適応した個体発生を果たしている可能性がある。本研究では、この仮説にアプローチするため、長距離輸送されるmRNAの網羅同定を行った。同定には、モデル植物シロイヌナズナとタバコの異種間接木法と高速シーケンサーを利用し、138分子種の長距離移行性のmRNAを同定し、Plant Cell Physiology誌に公表した。輸送経路の可視化システムも構築し、今後輸送様式の時空間的理解へと繋げ、植物がどのようにして環境応答しているかを考察する。

研究成果の概要(英文)：Phloem is a conductive tissue that allocates nutrients from mature source leaves to sinks such as young developing tissues. Phloem also delivers proteins and RNA species, such as small RNAs and mRNAs. Intensive studies on plant systemic signaling revealed the essential roles for proteins and RNA species. However, many of their functions are still largely unknown. A major difficulty is the absence of an accurate and comprehensive list of mobile transcripts. In this study, we used a hetero-graft system with *Nicotiana benthamiana* as the recipient scion and *Arabidopsis* as the donor stock, to identify transcripts that moved long distances across the graft union. We identified 138 *Arabidopsis* transcripts as mobile mRNAs, which we collectively termed the mRNA mobilome. RT-PCR, qRT-PCR and droplet digital PCR analyses confirmed the mobility. The transcripts included potential signaling factors and, unexpectedly, more general factors.

研究分野：植物長距離シグナル伝達

キーワード：移動性mRNA 篩管 長距離移行 長距離シグナル伝達 接木 高速シーケンサー

1. 研究開始当初の背景

篩管中を高分子が長距離移行することは、申請者のグループを含む複数のグループによる研究により明らかである。この機構が植物の発生に重要な役割を果たすことは、花成ホルモン・FT 蛋白質の発見により強力に印象づけられた。しかし、未だに長距離移行する高分子について信頼性の高いプロファイルはなく、くわえて移行が示された因子についても、正確に“どこ”から“どこ”へ運ばれ、運ばれた先の標的組織でどのような生理機能を発揮するのかが明らかでない。申請者は、FT 蛋白質の例は氷山の一角であり、未発見のホルモン様シグナル高分子が他にもあると考えている。

2. 研究の目的

本研究は、植物における新規な全身性シグナル伝達機構の理解を目指す。植物は周囲の環境に適応するため、環境情報は受容した成熟器官から未分化な分裂組織へ篩管を介して伝達される。篩管には既知の低分子植物ホルモンにくわえ、mRNA や蛋白質が含まれることが分かり、それら高分子もまた新規シグナル物質として分裂組織の運命決定に関わる可能性がある。本研究では、移行性高分子の網羅的同定と、移行経路の追跡システム構築を試み、生理機能の解明を目標とした研究基盤を整える。

3. 研究の方法

(1) 篩管中を長距離移行する高分子の同定には、異種間接木を利用した。シロイヌナズナ台木にタバコ穂木を接木し、台木からタバコ穂木に移行するシロイヌナズナ由来の高分子を同定した。

(2) mRNA の組織 / 細胞レベルの可視化には、RNA を直接可視化する手法、例として florophore-binding RNA aptamers (Spinach) を植物分野における先行例として試験した。

(3) 蛋白質の可視化には、蛋白質プライミング技術を応用して、移行を阻害しない短いタグ標識法を開発した。

4. 研究成果

植物は篩管を介して mRNA やタンパク質などの高分子を長距離輸送し、それら高分子のもつ働きによって、離れた器官間で情報伝達を行い、周囲の環境に適応した個体発生を果たしている可能性がある(図1)。本研究では、この仮説にアプローチするため、長距離輸送される mRNA の網羅的同定を行い、輸送経路の可視化システムを構築した。

(1) まず、植物の長距離移行性高分子 mRNA の網羅的同定のための実験系を確立した。同定には、モデル植物シロイヌナズナとタバコの異種間接木法と高速シークエンサーを利

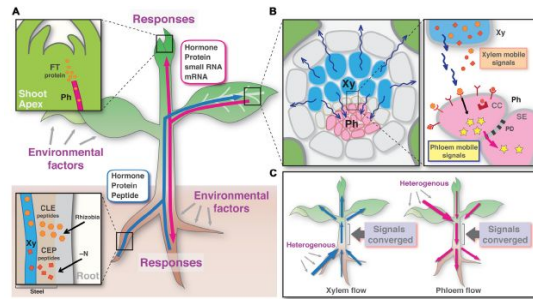


図 1

用し、138 分子種の長距離移行性の mRNA を同定した(図2)。70 分子種については、RT-PCR 法により再現性を検討した(図3)。また、qPCR 法およびデジタル PCR 法により、微量標的の定量化も試みた(図4)。一部の移動性 mRNA については、遺伝的リソースを用いて接木実験を行い、その意義についても考察した(図5)。タンパク質の同定には、ウリ科植物の異種間接木法を利用し、質量分析機を用いて篩管液を対象に解析を行い、これまでに篩管中に存在することが示唆されている複数のタンパク質を同定することに成功した。いずれの場合も、接木法を適用したことで、長距離移行性高分子についてはじめて疑いない情報を網羅的に得ることができた。得られた結果は、植物における全身性の情報伝達に関する今後の研究の基盤情報としての活用が期待される。

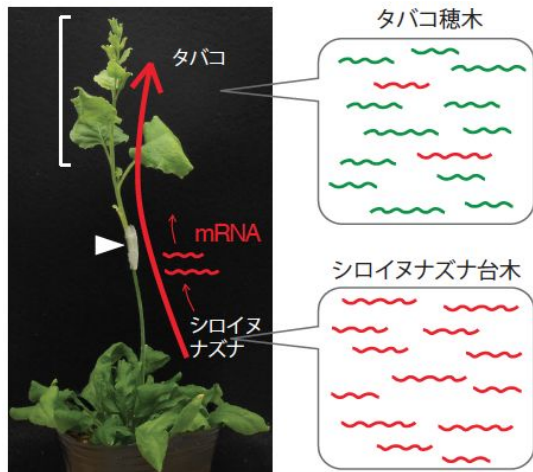


図 2

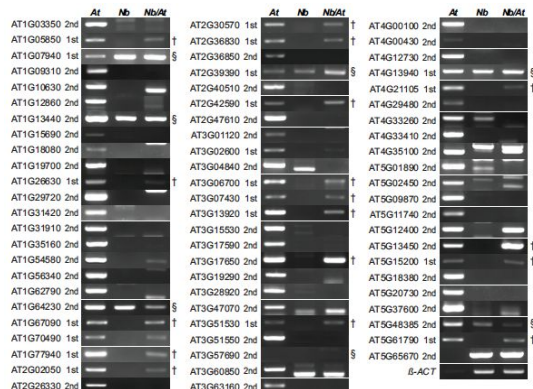


図 3

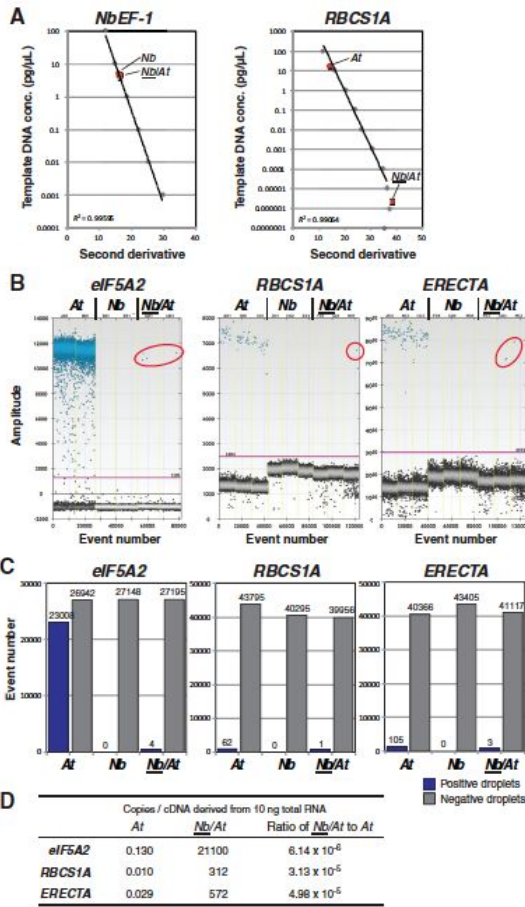


図 4

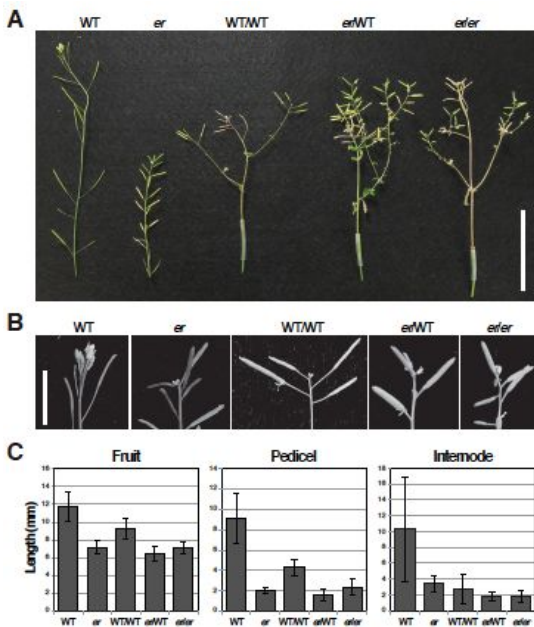


図 5

(2) 輸送経路の可視化システムについても構築が終了し、既に植物に導入済みである。これらのシステムは今後、候補シグナル高分子にフォーカスした研究へ適用してゆく予定である。

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] Notaguchi M and Okamoto S. 2015. Dynamics of long-distance signaling via plant vascular tissues. *Frontiers in Plant Science* 6: Article 161.

[2] Notaguchi M, Higashiyama T and Suzuki T. 2015. Identification of mRNAs That Move over Long Distances Using an RNA-Seq Analysis of Arabidopsis/Nicotiana benthamiana Heterografts. *Plant Cell Physiology* 56: 311-321.

[3] Notaguchi M. 2015. Identification of phloem-mobile mRNA. *Journal of Plant Research* 128: 27-35.

〔学会発表〕(計10件)

[1] 野田口理孝, 佐藤良勝, 東山哲也. タバコ属を用いた異科接木への挑戦. 園芸学会平成27年度春季大会. 2015年03月28日~2015年03月29日. 千葉県千葉市, 千葉大学.

[2] 野田口理孝, 佐藤良勝, 東山哲也. タバコ属を用いた異科接木への挑戦. 日本育種学会 第127回講演会. 2015年03月21日~2015年03月22日. 東京都町田市, 玉川大学.

[3] 野田口理孝, 佐藤良勝, 東山哲也. タバコ属を用いた異科接木への挑戦. 日本植物生理学会 第56回年会. 2015年03月16日~2015年03月18日. 東京都世田谷区, 東京農業大学.

[4] Michitaka Notaguchi, Yoshikatsu Sato, Tetsuya Higashiyama. A challenge to overcome graft-incompatibility using Nicotiana plants. 第8回国際環境生物資源学会シンポジウム Exploring the global

sustainability -Advances in Plant Biotechnology for Agriculture in Semi-arid land-. 2015年03月03日 ~ 2015年03月04日. 大阪府吹田市, 大阪大学.

[5] Michitaka Notaguchi. A challenge to overcome graft-incompatibility using Nicotiana plants. Plant reprogramming workshop. 2014年11月28日 ~ 2014年11月28日. 神奈川県横浜市, 理化学研究所.

[6] 野田口理孝. 篩管を長距離移行する高分子は何をする? 平成26年度シンポジウム「植物の中をめぐる多様なシグナル分子」. 2014年11月18日 ~ 2014年11月18日. 奈良県生駒市, 奈良先端科学技術大学院大学.

[7] 野田口理孝. タバコ属を用いた異科接木への挑戦. 11th JSOL International Symposium on Solanaceae Genomics. 2014年10月25日 ~ 2014年10月26日. 愛知県名古屋市, 名古屋大学.

[8] 野田口理孝, 鈴木孝征, 東山哲也. 篩管中を長距離輸送されるmRNAに関する研究. 第78回日本植物学会大会. 2014年09月12日 ~ 2014年09月14日. 神奈川県川崎市, 明治大学.

[9] Michitaka Notaguchi, Takamasa Suzuki, Tetsuya Higashiyama. Identification of mRNAs which move long-distance. International ERATO Higashiyama Live-Holonics Symposium 2014 "Plant Live-Cell Imaging and Microdevices". 2014年09月09日 ~ 2014年09月10日. 愛知県名古屋市, 名古屋大学.

[10] Michitaka Notaguchi, Takamasa Suzuki, Tetsuya Higashiyama. Identification of

mRNAs which move long-distance. Intercellular communication in plant development and disease. 2014年08月24日 ~ 2014年08月29日. France, Bischoffsheim, Le Bischenberg Centre de Congres et Seminaires.

〔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:
出願年月日:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕
ホームページ等
<http://www.liveholonics.com/top.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

野田口 理孝 (Michitaka Notaguchi)
名古屋大学・大学院理学研究科・研究員
研究者番号: 00647927

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号: