

平成 30 年 5 月 12 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26282207

研究課題名(和文)配糖体分子によって引き起こされる植物就眠運動の分子機構

研究課題名(英文)Molecular mechanism of plant nyctinasty

研究代表者

上田 実(Ueda, Minoru)

東北大学・理学研究科・教授

研究者番号：60265931

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,700,000円

研究成果の概要(和文)：マメ科植物には、夜に葉を閉じ、朝には再び葉を開く就眠運動というユニークな現象が見られる。就眠運動に関する最古の記録は、紀元前アレキサンダー大王の時代に遡り、進化論のダーウィンが晩年、膨大な観察研究を行った。昨年度ノーベル生理学医学賞の対象となった生物時計は、植物の就眠運動の観察から発見された。しかし、就眠運動の分子機構は、現在まで全く不明であり、関連する分子すら見つかっていなかった。東北大院理・院生命の上田らは、就眠運動を引き起こす分子(イオンチャネル)を初めて発見し、それらが葉の上面側と下面側の細胞で不均等に発現することで、葉の動きが生まれることを初めて明らかにした。

研究成果の概要(英文)：The circadian leaf opening and closing (nyctinasty) of Fabaceae has attracted scientists' attention since the era of Charles Darwin. Nyctinastic movement is triggered by the alternate swelling and shrinking of motor cells at the base of the leaf. This in turn is facilitated by changing osmotic pressures brought about by ion flow through anion and potassium ion channels. However, key regulatory ion channels and molecular mechanisms remain largely unknown. Here, we identify three key ion channels in mimosoid tree *Samanea saman*: the slow-type anion channels, SsSLAH1 and SsSLAH2, and the Shaker-type potassium channel, SPORK2. We show that cell-specific circadian expression of SsSLAH1 plays a key role in nyctinastic leaf opening. In addition, SsSLAH1 co-expressed with SsSLAH2 in flexor (abaxial) motor cells promoted leaf opening.

研究分野：天然物有機化学

キーワード：就眠運動 イオンチャネル

## 1. 研究開始当初の背景

マメ科植物には、夜に葉を閉じ、朝には再び葉を開く就眠運動というユニークな現象が見られる。就眠運動に関する最古の記録は、紀元前アレキサンダー大王の時代に遡り、進化論のダーウィンが晩年、草分け的な膨大な観察研究を行った。昨年度ノーベル生理学医学賞の受賞対象となった生物時計は、18世紀に、植物の就眠運動から発見された。このように、就眠運動は、太古の昔から人類の知的好奇心を刺激し、重要な科学的発見をもたらした。しかし、その分子機構には謎が多い。1970年代には、米国の植物生理学者が、就眠運動を生物時計解明の糸口を与える「ロゼッタストーン」に例えたが、それを読み解くことができる者は現れなかった。就眠運動は、高等学校の教科書にも記載される有名な生物現象であるが、ポストゲノム時代を迎えた現代においても、運動を制御する分子は発見されていなかった。

## 2. 研究の目的

就眠運動の科学研究には、マメ科の大型植物アメリカネムノキ(「この木なんの木」)が用いて、運動に関与する分子の同定を目指した。その後、就眠物質の関与について検討を行うことを計画した。

## 3. 研究の方法

アメリカネムノキは、各種の生理学的解析に適しており、葉の運動にはカリウムイオンが重要であること、それを制御するイオンチャンネル(カリウムチャンネル)が存在すると予想されること、など重要な知見を与えた。しかし、アメリカネムノキは非モデル植物であり、遺伝子操作を行うことができないため、遺伝学的解析が進まなかった。我々は、アメリカネムノキ運動細胞のトランスクリプトーム解析を行い、また、同じマメ科のダイズを使用した RNAi 実験を併用することで、運動を制御する分子の同定を目指した。

## 4. 研究成果

「葉を開く」運動には、葉の付け根の上面側と下面側に存在する運動細胞の膨張/

収縮が関与する。葉の付け根の下面側細胞が縮むと葉が外側に倒れて開き、葉の付け根の上面側細胞が縮むと葉が内側に倒れて閉じる。我々は、就眠運動を制御するイオンチャンネルとして、アメリカネムノキから、カリウムチャンネル SPORK2、陰イオンチャンネル SsSLAH1 および SsSLAH2 を発見した。さらに、葉の運動とイオンチャンネルの関連を明らかにするため、葉の付け根の上下両面側の運動細胞を分離して、各々におけるイオンチャンネル遺伝子の発現量を時間を追って調べた。細胞の収縮には、3つのチャンネル全てが必要であるが、陰イオンチャンネル SsSLAH1 は、葉を開く朝方に下面側だけで発現しており、これによって下面側のみで運動細胞が収縮する。こうして葉の下面側が縮むことで、それに引っ張られるように、葉が外側に倒れて「開く」ことがわかった。つまり、陰イオンチャンネル SsSLAH1 は、就眠運動のマスター制御因子である。

また、これらイオンチャンネルの発現制御は、朝方に働く時計遺伝子 SsCCA1 の支配下にある。SsCCA1 は、隣り合う細胞間で異なる制御パターンを持ち、葉の下面側でのみ SsSLAH1 遺伝子の発現制御に関与する。葉の上面と下面という隣り合う細胞間で、時計遺伝子 SsCCA1 が異なる遺伝子発現制御パターンを持つようになったことで、就眠運動という生物現象が発生したと考えている。今後は、これらイオンチャンネルと就眠覚醒物質の関係に関する研究を行う。

## 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11件)

1) Y. Ishimaru, T. Oikawa, T. Suzuki, H. Matsuura, K. Takahashi, S. Takeishi, S. Hamamoto, N. Uozumi, T. Shimizu, M. Seo, H. Ohta, M. Ueda, GTR1 is a jasmonic acid and jasmonoyl-L-isoleucine transporter in *Arabidopsis thaliana*, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **81**, 249-255 (2017).

Selected as a front cover picture.  
[doi.org/10.1080/09168451.2016.1246174](https://doi.org/10.1080/09168451.2016.1246174),

### BBB 論文受賞論文

- 2) Y. Ishimaru, K. Washiyama, T. Oikawa, S. Hamamoto, N. Uozumi, and M. Ueda, Dimerization of GTR1 regulates their plasmamembrane localization, *Plant Signal. Behav.*, e1334749 (2017). DOI: 10.1080/15592324.2017.1334749.
- 3) M. Ueda, S. Egoshi, K. Dodo, Y. Ishimaru, H. Yamakoshi, T. Nakano, Y. Takaoka, S. Tsukiji, M. Sodeoka, Non-canonical function of a small-molecular virulence factor coronatine against plant immunity: An *In vivo* Raman imaging approach, *ACS Cent. Sci.*, **3**, 462-472 (2017). DOI: 10.1021/acscentsci.7b00099
- 4) N. Shinohara, N. Sunagawa, S. Tamura, R. Yokoyama, M. Ueda, K. Igarashi, K. Nishitani, The plant cell-wall enzyme AtXTH3 catalyses covalent cross-linking between cellulose and cello- oligosaccharide. *Sci. Rep.*, **7**, 46099; doi: 10.1038/srep46099 (2017). Selected as an F1000 article
- 5) Y. Takaoka, Y. Nukadzuka, M. Ueda, Reactive group-embedded affinity labeling reagent for efficient intracellular protein labeling, *Bioorg. Med. Chem.* (invited paper), **25**, 2888-2894 (2017). doi.org/10.1016/j.bmc.2017.02.059
- 6) Y. Takaoka, M. Imai, M. Shigenaga, M. Ueda, Design and synthesis of a second-generation ligand-tethered calcium indicator for plant cell biology based on the fundamental analyses of the structure and physical property, *Tetrahedron*, **73**, 3079-3085 (2017). doi.org/10.1016/j.tet.2017.04.023
- 7) H. Oishi, Y. Takaoka, T. Nishimaki-Mogami, H. Saito, M. Ueda, A Novel Nuclear Receptor Ligand, Digoxigenin, is a Selective Antagonist of Liver-X-receptors, *Chem. Lett.*, **46**, 313-314 (2017). doi.org/10.1246/cl.161071
- 8) Y. Kanno, T. Oikawa, Y. Chiba, Y. Ishimaru, T. Shimizu, N. Sano, T. Koshihara, Y. Kamiya, M. Ueda, M. Seo, AtSWEET13 and AtSWEET14 regulate gibberellin-mediated physiological processes, *Nature Commun.* **7**:13245 | DOI: 10.1038/ncomms13245 (2016). Selected as an F1000 article
- 9) S. Egoshi, Y. Takaoka, H. Saito, Y.

- Nukadzuka, K. Hayashi, Y. Ishimaru, H. Yamakoshi, K. Dodo, M. Sodeoka, M. Ueda, Dual function of coronatine as a bacterial virulence factor against plant: possible COI1-JAZ-independent role, *RSC Adv.*, **6**, 19404-19412 (2016). DOI: 10.1039/C5RA20676F
- 10) Y. Takaoka, M. Shigenaga, Y. Nukadzuka, M. Imai, Y. Ishimaru, K. Saito, R. Yokoyama, K. Nishitani, M. Ueda, Protein Ligand-tethered Synthetic Calcium Indicator for Localization Control and Spatiotemporal Calcium Imaging in Plant Cells, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **26**, 9-14 (2016). doi.org/10.1016/j.bmcl.2015.11.055
  - 11) T. Kobayashi, R. Nakanishi Itai, T. Senoura, T. Oikawa, Y. Ishimaru, M. Ueda, H. Nakanishi, N. K. Nishizawa, Jasmonate signaling is activated in the very early stages of iron deficiency responses in rice roots, *Plant Mol. Biol.*, **91**, 533-547 (2016). DOI: 10.1007/s11103-016-0486-3

### 〔学会発表〕(計 13 件)

- 1) Minoru Ueda, GTR1, a Unique Multifunctional Transporter, Asian Chemical Biology Initiative 2017 Ulaanbaatar Meeting, Ulaanbaatar, Mongolian (Sep 2-5, 2017).
- 2) Minoru Ueda, GTR1, a Unique Multifunctional Transporter, The Second A3 Roundtable Meeting on Chemical Probe Research Hub, Hangzhou, China (Nov 23-25, 2017).
- 3) Minoru Ueda, Plant Chemical Biology with Bioactive Natural Products, the International Symposium on Systems, Synthetic and Chemical Biology, Bose Institute, Kolkata, India (Dec 5-7, 2017).
- 4) Minoru Ueda, Chemical Biology of Plant Natural Products, The First A3 Roundtable Meeting on Chemical Probe Research Hub, Fukuoka, Japan (Sep 22-24, 2016).
- 5) Minoru Ueda, Plant Chemical Biology using Bioactive Natural Products, RIKEN-Max Planck Joint Research Center Fifth Annual Symposium, Berlin, Germany (Apr 17-20, 2016).

6) Minoru Ueda, Chemical biology of coronatine: Pathogenic infection in plants, Pacificchem 2015 symposium#66 Natural product-based drug discovery, Honolulu, USA (Dec 15-20, 2015).

7) Minoru Ueda, Plant Chemical Biology using Natural Products, NEA-ASIAHOC, OIST, Okinawa, Japan (Nov 9-12, 2015).

8) 上田 実、「天然物の科学：ケミカルバイオロジーと Chemistry&Biology」、日本農芸化学会年会シンポジウム「これからの天然物サイエンス」、日本農芸化学会 2017 年度大会（名古屋）、2018 年 3 月 18 日。

9) 上田 実、「生理活性天然有機化合物と植物科学」、山田科学振興財団 40 周年記念シンポジウム（東京）、2017 年 10 月 14 日。

10) 上田 実、「植物の天然物ケミカルバイオロジー」、新学術領域 天然物ケミカルバイオロジー 成果取りまとめシンポジウム（慶應義塾大学）、2016 年 7 月 1 日。

11) 上田 実、「植物生理活性物質のケミカルバイオロジー」、第 89 回日本生化学会大会（仙台）シンポジウム「生物活性と創薬のケミカルバイオロジー」、2016 年 9 月 24 日。

12) 上田 実、「植物の天然物ケミカルバイオロジー」、第 21 回天然薬物の開発と応用シンポジウム（千葉市）、2016 年 10 月 27-28 日。

13) 上田 実、「植物の生態と化学物質：植物の化学コミュニケーション、植物の運動」東北植物学会第 6 回大会（宮城大会）、2016 年 12 月 10 日。

〔図書〕（計 件）

〔産業財産権〕

出願状況（計 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 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  
上田 実 (UEDA, Minoru)  
東北大学・大学院理学研究科・教授  
研究者番号：60265931

(2) 研究分担者  
( )

研究者番号：

(3) 連携研究者  
( )

研究者番号：

(4) 研究協力者  
( )