
東京農業大学・生命科学部



東京農業大学
生命科学部
バイオサイエンス学科
助教
伊藤晋作

2011年 東京大学大学院農学生命科学研究科博士課程修了
2011年 東京大学大学院農学生命科学研究科 特任研究員
2012年 東京農業大学応用生物科学部 助教
2017年 東京農業大学生命科学部 助教

植物ホルモン機能の制御によるリン酸吸収効率化 に関する研究

研究目的

リンは植物の生長に必須な栄養素であり、DNA や RNA、ATP、リン脂質など生体内で重要な役割を担う化合物中に存在している。植物はリンを土壤中から吸収し利用しているが、土壤中の無機リンは難溶性のリンや有機態リンを生じやすいため、植物は土壤中のリンを有効活用出来ずリン酸欠乏に陥りやすい。そのため植物は低リン条件下においてリンを活用するために様々な適応戦略を発達させており、これらの応答を強化することによって土壤中リンの有効活用が期待出来ると考えられる。これらの応答にはオーキシシンやサイトカイニン等の植物ホルモンも関与していることが示唆されているものの、これらの植物ホルモンは発生や分化等、植物の生長に必須の生理作用も制御しており、生合成やシグナル伝達の改変は多くの場合致死となるためリン酸吸収の制御には使用しづらい。

一方、ストリゴラクトン (SL) は枝分かれや根の発達など様々な作用が報告されている植物ホルモンであるが、SL シグナルの改変による致死性は報告されていない。また SL は植物にリンを供給するアーバスキュラー菌根菌 (AM 菌) との共生シグナルとしての働きを持っている。植物はリン酸欠乏状態となった時、リン酸を獲得するために SL の生産を活発にすることで AM 菌との共生を促し、リン酸を獲得しようとすると考えられている。また近年の研究により SL 自体が植物にリン酸欠乏応答を引き起こし、リンの吸収、移行を促す可能性が示唆された。そこで本研究では植物ホルモン、特に SL によるリン酸吸収メカニズムを解析することで植物の効率的リン酸吸収法確立のための基盤研究を行った。

内容、方法

1. リン酸欠乏応答遺伝子欠損体のリン酸吸収量の解析

SL 生合成変異体シロイヌナズナを用いた RNAseq によってリン酸トランスポーターの働きを制御する *PHO2* 遺伝子の発現量が増加していたため (Ito et al., 2015)、*pho2* 変異体入手しストリゴラクトン処理によるリン酸吸収の影響を検討した。野生型株においてはストリゴラクトン処理により植物重量の減少が観察されることから、植物重量も測定することで影響を測定した。SL は合成ストリゴラクトンとして知られている GR24 を合成し使用した。

2. SL による土壤細菌叢への影響の解析

SL は根より分泌され、土壤中に存在する AM 菌の菌糸分岐を誘導することで AM 菌との共生を促す。近年 SL が AM 菌以外の土壤細菌にも影響を与えることが報告されているため、SL の土壤細菌への影響を解析した。具体的には土壤に 10 μ M, 1 μ M の GR24 を加え、経時的に土壤中の DNA を回収し、次世代シーケンサーにより土壤細菌叢の変化を解析した。

3. SL 機能を制御する植物ホルモンの探索

リン酸吸収には SL の他にオーキシンやサイトカイニン、エチレン、ジベレリンなどの植物ホルモンが関与していることが知られている。オーキシン、サイトカイニン、エチレンについて SL とのクロストークが広く知られていることからジベレリンに着目し、SL との関連の解析を行うこととした。ジベレリン処理による SL 生合成への影響、およびジベレリン処理による枝分かれ数を測定した。

結果

1. リン酸欠乏応答遺伝子欠損体のリン酸吸収量の解析

野生型株と *pho2* 変異体での植物重量を比較した結果、どちらの株においても GR24 処理によって同程度の植物個体重量の減少が観察されたことから *pho2* 変異体においても野生型株と同様の SL 応答を示すことが示唆された。一方でリン酸含量を測定したところ、これまでの報告の通り *pho2* 変異体では野生型株よりもリン酸含量が増加していた。GR24 を処理した場合、*pho2* 変異体においてリン酸吸収量が有意に増

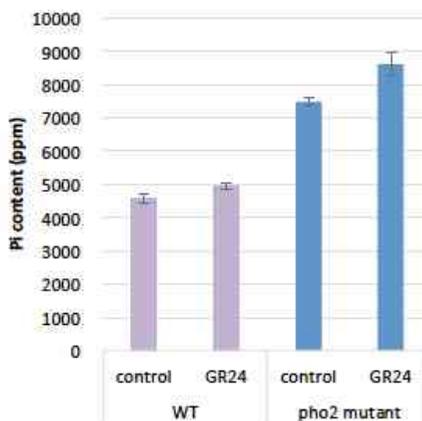


図1 リン酸含有量の測定結果

加したことから (Fig. 1)、SL を用いたリン酸吸収において *PHO2* 遺伝子の欠損が正に制御している可能性が考えられた。

2 . SL による土壤細菌叢への影響の解析

GR24 の処理濃度、処理時間での土壤細菌叢の変化を観察した結果、細菌叢には有意な変化は見られなかった。自然環境下では SL は細菌叢に大きな影響を与えないと考えられた。

3 . SL 機能を制御する植物ホルモンの探索

これまでにイネにおいてジベレリンシグナルが SL 生合成を負に制御することが明らかとなっている (Ito et al., in press)。そこでシロイヌナズナにおいてもジベレリンシグナルが SL 生合成を制御するかどうかを検討した。その結果、ジベレリン処理によって SL 生合成遺伝子である *MAX3*, *MAX4*, *D27* 遺伝子の発現量が減少したことからシロイヌナズナにおいてもジベレリンシグナルが SL 生合成を制御していることが示唆された。一方、イネでジベレリンによって制御された SL 生合成遺伝子ホモログの中で P450 (*MAX1*) 遺伝子はシロイヌナズナにおいて発現量の変化が見られなかったことから、イネとシロイヌナズナでは遺伝子発現制御機構が異なることが予想された。

SL は枝分かれを制御する植物ホルモンでもあるため、イネを用いてジベレリン処理による枝分かれへの効果を検証した結果、ジベレリン処理によって枝分かれ数が減少した。SL 生合成およびシグナル伝達変異体においてもジベレリン処理によって枝分かれ数が減少したことから、枝分かれにはジベレリンと SL は独立して機能する可能性が考えられた。

考察

本研究では、植物ホルモンを用いたリン酸吸収技術を確立するため、SL を中心として 1 . SL のリン酸吸収機構の解析、2 . SL とジベレリンのクロストークの解析、を行った。1 においては SL 欠損変異体の RNAseq で変化した遺伝子の中でリン酸吸収に関わることが知られている *PHO2* に着目して行った。*pho2* 変異体は SL に対して野生型と同じ応答をする一方で、リン酸吸収に関しては SL 感受性の変化が見られた。今回行った実験は全て外部からの SL 処理実験であるため、今後は SL 生合成と *pho2* の二重変異体を用いた実験を行う必要がある。2 に関しては新たな SL 制御因子としてジベレリンを見出すことができた。しかしその制御メカニズムは不明である。ジベレリンと SL は程度の差はあるものの似た作用を示すことが知られているので、クロストークに関わる因子の同定などを行っていきたい。

謝辞

本研究にご支援いただきました公益財団法人サッポロ生物科学振興財団に深く感謝いたします。また、当研究の遂行に尽力していただいた研究室の学生諸氏に深く感謝申し上げます。

参考文献

Ito S et al. Strigolactone regulates anthocyanin accumulation, acid phosphatases production and plant growth under low phosphate condition in *Arabidopsis*. PLOS ONE (2015) 10(3): e0119724.

Ito S et al. Regulation of strigolactone biosynthesis by gibberellin signaling. *Plant Physiol.* In press.