

植物の成長を統御する重力応答分子の機能とネットワーク機構

東北大・院・生命科学 高橋秀幸、藤井伸治、宮沢豊

Gravity-responsive molecules and their network for governing plant growth and development

H. Takahashi, N. Fujii, Y. Miyazawa

Graduate School of Life Sciences, Tohoku University, Katahira, Aoba-ku, Sendai 980-8577

E-Mail: hideyuki@ige.tohoku.ac.jp

This study was aimed at revealing molecular aspects of gravimorphogenesis and their interactions with other regulatory mechanisms of growth and development in plants. Spaceflight experiments to verify those hypotheses on the gravity-dependent mechanisms in microgravity are important not only for understanding the mechanisms by which plants control their growth orientation and development but also for establishing life-support system by supplying suitable energy, food and environment. Here, we studied the gravity-responsive molecules for gravimorphogenesis of cucumber seedlings, molecular mechanisms for hydrotropism and its interaction with gravitropism in roots, and the gravity-dependent circumnutation in morning glory.

Key words; Arabidopsis, Auxin, Auxin transport, Circumnutation, CsARF, CsGRP1, CsIAA1, CsPIN, Cucumber, Endodermis, Ethylene, Gravimorphogenesis, Gravisensing, Gravitropism, Hydrotropism, Microgravity, Mizu-kussei (MIZ), Morning glory, Mutant

本研究では、キュウリの重力形態形成を実験系として重力応答制御分子を同定するとともに、根の重力屈性が水分屈性と相互作用する仕組みや、重力依存的成長現象の分子機構を解明するためのモデルを構築することを目的とした。それらのモデルを宇宙実験によって検証することは、植物の成長・姿勢制御機構を理解するだけでなく、地球や地球外における人類の生命維持のためにエネルギー源と環境を確保するという観点からも重要である。

重力形態形成に機能する重力応答分子

キュウリ種子を横にして発芽させるとペグは必ず茎と根の境界域の下側に1個形成されるが、微小重力下では、2つのペグが境界域の両側に形成される。したがって、キュウリの芽生えは2つのペグを形成する能力をもつものの、地球上では重力応答によって境界域の上側のペグ形成が抑制されるものと考えられる。この重力によるペグ形成のネガティブな制御は、ペグ形成開始期の境界域上側におけるオーキシン量の減少に起因する。この重力形態形成機構を解明するために、ペグ形成の制御において、重力応答によって誘導されるオーキシンの横輸送のメカニズム、とくにオーキシン排出キャリアの役割、さらに、その結果として確立されるオーキシンの偏差分布に伴う転写調節機構、その下流で機能するペグ形成制御因子を明らかにすることを試みた。その結果、6種類のオーキシン排出キャリア cDNA を単離し、その系統解析および発現解析から、

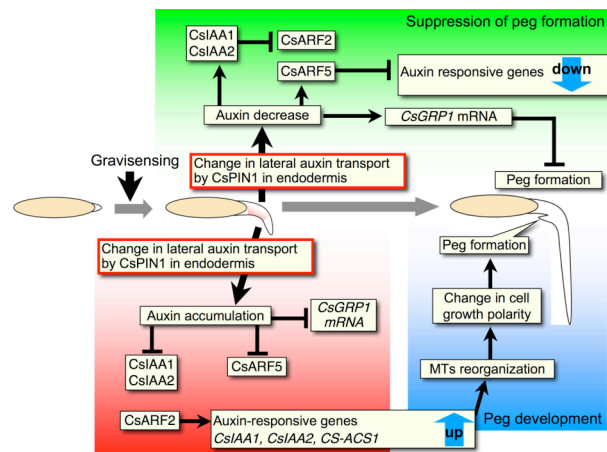


図1 キュウリ芽生えにおける重力による形態形成のネガティブコントロールに関するモデル

水平にして発芽させたキュウリの芽生えでは、茎と根の境界域の内皮細胞で重力を感じ、内皮細胞の細胞膜でのCsPIN1の局在パターン、そして内皮でのオーキシンの横輸送が変化する。その結果、境界域の上側ではオーキシンが減少し、ペグ形成が抑制される。オーキシンが減少することにより、オーキシンによる転写のネガティブレギュレーターであるCsIAA1、CsIAA2タンパク質は分解されず、オーキシンによる転写のポジティブレギュレーターであるCsARF2の活性を抑制する。これとともに、オーキシンによる転写のネガティブレギュレーターであるCsARF5タンパク質の蓄積が増大し、オーキシン誘導性遺伝子の発現が抑制される。これに加え、オーキシンが減少することにより、CsGRP1の発現が増大し、ペグ形成が抑制される。一方、境界域の下側ではオーキシン濃度が維持され、ネガティブレギュレーターであるCsIAA1、CsIAA2、CsARF5タンパク質が分解される。これにより、オーキシンによる転写のポジティブレギュレーターであるCsARF2が、オーキシン誘導性遺伝子発現を誘導し、ペグ形成が開始される。同時に、オーキシン濃度が維持された境界域の下側ではCsGRP1の発現が抑制される。これらが表層微小管の配向、皮層細胞の成長極性を変化させ、ペグ形成を誘導する。

CsPIN1 と CsPIN6 が重力形態形成に機能する可能性を示した。それらの抗体を作成してタンパク質の発現解析を行い、ペグ形成部位である根と茎の境界域の内皮細胞における CsPIN1 の局在パターンが重力刺激によって変化することを見出し、オーキシン横輸送に関する新たなモデルを提唱した。このモデルにより横になった境界域の上側でオーキシン量が低下し、ペグ形成が抑制されることを説明した。また、オーキシンを介した転写制御を担う CsARF cDNA をキュウリから単離し、そのうち、CsARF2 がオーキシン誘導性遺伝子の転写活性化因子として、CsARF5 が転写抑制因子として、重力形態形成のためのオーキシンを介した転写調節に関与する可能性を示した。さらに、オーキシンによって発現抑制されるグリシンリッチタンパク質 (CsGRP1) がペグ形成抑制因子として機能することを見出した。

以上の成果に基づき、キュウリの芽生えにおける重力による形態形成のネガティブコントロールに関するモデルを構築し、重力によって直接的に制御されるオーキシン動態およびその下流で機能する分子機構の実体を明らかにした (図1)。今後、宇宙実験によって CsPIN1 局在の重力制御、その下流で機能する分子群の役割を検証することが重要である。

重力屈性が干渉する水分屈性の分子機構

シロイヌナズナの根は重力屈性の存在下でも水分屈性を強く発現するが、その場合も、クリノスタットで回転させて重力屈性を消去すると水分屈性が促進されることから、重力屈性が水分屈性に干渉することが明らかになった。また、シロイヌナズナの水分屈性突然変異体を単離し、水分屈性を特異的に欠損する突然変異体の変異原因遺伝子 (MIZ1 と MIZ6) を世界ではじめて同定することに成功した。一方、水分屈性と重力屈性における干渉は、それぞれが誘導するオーキシン動態の競合によることが示唆された。したがって、これらの水分屈性と重力屈性のメカニズムを分離し、それぞれの分子の作用とネットワーク機構を検証するための宇宙実験の標的が明確になった。

重力感受を必要とする回旋転頭運動と蔓巻き

私たちは、重力屈性を欠損したシダレアサガオの *weeping*, *weeping2* が回旋転頭運動と蔓巻き性を示さないことに着目し、それぞれの変異原因遺伝子が重力感受細胞の内皮細胞分化に必須の *SCARECROW* (*PnSCR*) および *SHORT ROOT* (*PnSHR1*) であること、

回旋転頭運動と、それに起因する蔓巻きに重力感受細胞を必要とすることを明らかにした。この成長現象の重力依存性は、宇宙実験により検証されるべきものである。

発表論文

- Fujii N, Saito Y, Miyazawa Y, Takahashi H (2007) Light inhibits gravity-regulated peg formation and symmetric mRNA accumulation of auxin-inducible *CsIAA1* in the cortex of the transition zone in cucumber seedlings. *Adv Space Res* doi:10.1016/j.asr.2007.01.019
- Kaneyasu T, Kobayashi A, Nakayama M, Fujii N, Takahashi H, Miyazawa Y (2007) Auxin response, but not its polar transport, plays a role in hydrotropism of *Arabidopsis* roots. *J Exp Bot* 58: 1143-1150.
- Kitazawa D, Hatakeda Y, Kamada M, Fujii N, Miyazawa Y, Hoshino A, Iida S, Fukaki H, Morita MT, Tasaka M, Suge H, Takahashi H (2005) Shoot circumnutation and winding movements require gravisensing cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 102: 18742-18747
- Kitazawa, D., Miyazawa, Y., Fujii, N., Nitasaka, E. and Takahashi, H. (2008) Characterization of a novel gravitropic mutant of morning glory, *weeping2*. *Adv Space Res* (in press).
- Kobayashi A, Takahashi A, Kakimoto Y, Miyazawa Y, Fujii N, Higashitani A, Takahashi H (2007) A gene essential for hydrotropism in roots. *Proc Natl Acad Sci USA* 104: 4724-4729.
- Saito Y, Yamasaki S, Fujii N, Hage G, Guilgoyle T, Takahashi H (2004) Isolation of cucumber *CsARF* cDNAs and expression of the corresponding mRNAs during gravity-regulated morphogenesis of cucumber seedlings. *J Exp Bot* 55: 1315-1323.
- Saito Y, Yamasaki S, Fujii N, Takahashi H (2005) Possible involvement of CS-ACS1 and ethylene in auxin-induced peg formation of cucumber seedlings. *Ann Bot* 95: 413-422.
- Shimizu M, Miyazawa Y, Fujii N, Takahashi H (2008) *p*-Chlorophenoxyisobutyric acid impairs auxin response for gravityregulated peg formation in cucumber seedlings. *J Plant Res* (in press).
- Shimizu M, Suzuki K, Miyazawa Y, Fujii N, Takahashi H (2006) Differential accumulation of the mRNA of the auxin-repressed gene *CsGRP1* and the auxin-induced peg formation during gravimorphogenesis of cucumber seedlings. *Planta* 225 :13-22.