

# シロイヌナズナの根の重力屈性と水分屈性の相互作用における MYB52 とブラシノステロイドの役割

藤井 伸治 (東北大・院), 卯 博源 (東北大・院), 曾我 康一 (大阪公立大・院)

## Role of MYB52 and brassinosteroids in the interaction between gravitropism and hydrotropism in Arabidopsis roots

Nobuharu Fujii<sup>1</sup>, Boyuan Mao<sup>1</sup>, Koichi Kouichi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Graduate School of Life Sciences, Tohoku University, 2-1-1 Katahira, Aoba-ku, Sendai, Miyagi 980-8577

<sup>2</sup>Graduate School of Science, Osaka Metropolitan University, 3-3-138 Sugimoto, Sumiyoshi-ku, Osaka 558-8585

E-Mail: nobuharu.fujii.b7@tohoku.ac.jp

**Abstract:** Root gravitropism interferes with root hydrotropism although the intensity of interference of root gravitropism with root hydrotropism differs among plant species. In a single species, Arabidopsis natural variants also showed diversity of root hydrotropism in a stationary condition, suggesting the intensity of interference of root gravitropism with root hydrotropism differs among the Arabidopsis natural variants. Genome-wide association studies (GWAS) using the hydrotropic curvature identified a significant nonsynonymous polymorphism of *MYB52* gene that contributes on the diversity of root hydrotropism. The hydrotropic curvatures of the T-DNA mutant of *MYB52* gene under clinorotation were significantly greater than that of wild-type (Col-0) although that of *myb52* mutants under stationary conditions did not significantly differ from that of wild-type. These results suggested that MYB52 is involved in suppression of root hydrotropism in response to gravity conditions. It has been shown that *MYB52* gene encodes a transcriptional factor that activates expressions of *PECTIN METHYLESTERASE INHIBITOR* genes. In addition, the inhibition of PECTIN METHYLESTERASE (PME) activity has been suggested to cause the activation of the Brassinosteroid (BR) signaling pathway. Here, we will discuss the possibility that MYB52, PME activity and BR signaling pathway play roles on the interaction between gravitropism and hydrotropism in Arabidopsis roots.

**Key words:** Root gravitropism, Root hydrotropism, Arabidopsis, MYB52, PME, Brassinosteroids

### 1. はじめに

植物の根は養水分の吸収に機能し、土壤中での根系を発達させ、植物体の生育を支える。根の屈性は根の伸長方向を決定し、土壤中での根系の形成・発達に影響すると考えられる。植物の根の重力屈性に対する水分屈性の強度には種間差が存在し、エンドウ、キュウリなどの比較的大きな草本植物 (大型草本植物) では、水分屈性に比べて重力屈性が強く発現するのに対し、シロイヌナズナ、ミヤコグサ、イネなどの小さな草本植物 (小型草本植物) では、重力屈性に比べて水分屈性が強く発現する<sup>1,2,3,4</sup>)。このことから、大型草本植物の根では、水分屈性の発現に比べて重力屈性がより強く発現し、根を地中深くまで侵入させた後に、根系が発達し、より多くの養水分を吸収し、地上部の活発な成長を支えていると予想される。一方、小型草本植物の根では、重力屈性に比べて水分屈性が強く発現するために、根は地中深くまでは侵入せずに水分屈性が発現し、根系が地表表面の近くの土壤中が発達すると予想される。これらの知見は異

なる植物種 (イネ、キュウリ、エンドウ、ミヤコグサ、シロイヌナズナ) 間の比較であり、本知見の分子生物学的な理論への発展が困難であった。

そこで我々は、シロイヌナズナの 217 の自然変異体の水分屈性を比較・解析し、その結果、シロイヌナズナの自然変異体の静置区での水分屈性による屈曲角度は、Cvi-0、MNF-Pot-75 のようにほとんど屈曲しない自然変異体から、Vash-1 のように Col-0 の 2 倍ほど屈曲する自然変異体があり、シロイヌナズナの自然変異体の水分屈性の発現は多様であることを見出した<sup>5</sup>)。そして、シロイヌナズナの自然変異体の静置区での水分屈性による屈曲角度を用いて GWAS (Genome-Wide Association Study) を行った。その結果、水分屈性の発現に影響を与えるアミノ酸の非同義置換の一つとして、*MYB52* 遺伝子がコードするタンパク質の 227 番目のプロリンからアルギニンへの非同義置換を見出した<sup>5</sup>)。本非同義多型が自然変異間での水分屈性の発現の差異に影響を与えているのであれば、*MYB52* 遺伝子の機能欠損も水分屈性の発現に影響を

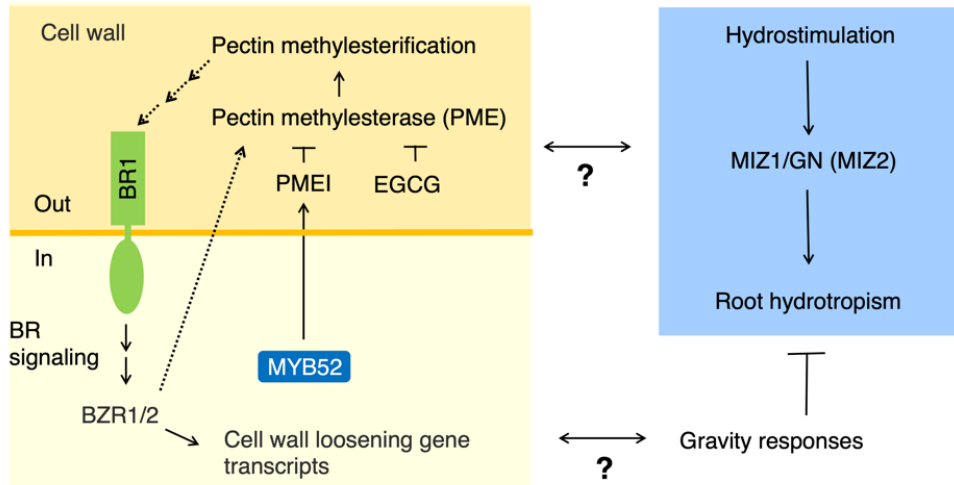


図1 重力応答、水分屈性、PME、ブラシノステロイドシグナル伝達経路の相互作用のモデル

転写因子の MYB52 は *Pectin Methylesterase Inhibitor (PMEI)* 遺伝子の発現を誘導し、細胞壁を構成しているペクチンをメチル化する *Pectin Methylesterase (PME)* の活性を抑制する<sup>6)</sup>。また、ペクチン修飾の変化による細胞壁の特性変化が、ブラシノステロイドシグナル伝達経路を活性化させ、ペクチン依存的な細胞壁の恒常性を維持するフィードバック制御が提唱されている<sup>7)</sup>。一方、MIZ1 と GN/MIZ2 を介して発現する水分屈性は重力応答に干渉される<sup>10)</sup>。MYB52 遺伝子の欠損により、擬似微小重力条件下での水分屈性が増加したことから、ペクチン依存的な細胞壁の恒常性を維持機構は、重力応答・水分屈性と相互作用していると予想している。

与えると期待される。そこで、MYB52 遺伝子への T-DNA の挿入系統 (SALK\_138624C; *myb52* 変異体) の水分屈性を解析した。その結果、静置条件下では野生型 (Col-0) との間に有意差が認められなかったが、クリノスタット条件下では野生型に比べて *myb52* 変異体の屈曲角度が増大した<sup>5)</sup>。したがって、MYB52 タンパク質は擬似微小重力条件下で水分屈性を抑制していると考えられた。

## 2. Pectin Methylesterase とブラシノステロイド

MYB52 タンパク質は転写因子として機能し、*Pectin Methylesterase Inhibitor (PMEI)* 遺伝子の発現を誘導し、細胞壁を構成しているペクチンをメチル化する *Pectin Methylesterase (PME)* の活性を抑制することが知られている<sup>6)</sup>。Wolf らは、シロイヌナズナでの *PMEI* 遺伝子 (*PMEI5*, At2g31430) の強制発現体 (*PMEIox*) では、根の波形成長が促進されるとともに、根の重力屈性が低下することを見出した<sup>7)</sup>。これらの根の波形成長の促進と根の重力屈性の低下は、野生型のシロイヌナズナ (Col-0) への PME の活性の阻害剤であるカテキンの誘導体である EGCG ((-)-epigallocatechin gallate) の処理によっても引き起こされた<sup>7)</sup>。そして、*PMEIox* 形質転換体では、上述の根の成長異常の他に、成熟個体の地上部の小型化が引き起こされたことから、本形質を指標に、シロイヌナズナの *PMEIox* 形質転換体の種子に、変異誘発剤 (Ethyl methanesulfonate) を処理して得られた約 11 万個体の

M<sub>2</sub> 植物をスクリーニングし、*PMEIox* 形質転換体での形質異常が野生型に回復する *comfortably numb1 (cnu1)* 変異体を単離した<sup>7)</sup>。マッピングの結果、本変異は BR11 ブラシノステロイド受容体のキナーゼドメインのアミノ酸の非同義置換 (G944D) を引き起こすミスセンス変異であることが明らかになった<sup>7)</sup>。そして、ブラシノステロイドの 1 種である 24-epibrassinolide (BL) の処理により、野生型でも根の波形成長が促進され、根の重力屈性の低下が認められることを見出した<sup>7)</sup>。ブラシノステロイドシグナル伝達経路では、ブラシノステロイドの BR11 ブラシノステロイド受容体への結合により、ブラシノステロイドシグナル伝達経路の負の制御因子である BIN2 の活性が抑制され、その結果、BZR1/2 転写因子の活性が脱抑制化され、シグナル経路が活性化される<sup>8)</sup>。Wolf らは、BIN2 の活性を阻害する Bikinin (4-[(5-bromo-2-pyridinyl) amino]-4-oxobutanoic acid) 処理によっても、野生型での根の波形成長の促進と、根の重力屈性の低下が引き起こされことを確認した<sup>7)</sup>。更に、BR11 ブラシノステロイド受容体遺伝子のいくつかのアリル変異体 (*bri1<sup>cnu1</sup> (G944D)*, *bri1-5<sup>C69Y</sup>*, *bri1-301<sup>G989I</sup>*) で、PME 阻害剤 EGCG 処理による根の重力屈性の低下は認められなくなる結果を得て、Wolf らは、ペクチン修飾の変化により生じる細胞壁の特性変化が、ブラシノステロイドシグナル伝達経路を活性化させ、細胞壁の伸展性を増加させる遺伝子の発現を誘導する、ペクチン依存的に細胞壁の恒常性を維持するフィー

ドバック制御機構を提唱している<sup>7)</sup>。

これまでに、Miaoらは、シロイヌナズナの異なる自然変異体・アクセッションのColumbia (Col-0)、C24、Wassilewskija (Ws)の静置条件下での水分屈性による屈曲角度は、C24 < Col-0 < Wsとなることを報告していた<sup>9)</sup>。そして、水分勾配刺激に応答して、C24に比べてWsで、*BRI1* ブラシノステロイド受容体遺伝子の発現がより誘導されることが示されるとともに、Wsの*BRI1* 遺伝子での変異体 (*bril-5<sup>C69Y</sup>*)の水分屈性による屈曲角度は、野生型 (Ws) に比べて低下することを示した<sup>9)</sup>。以上のことから、現在、私達は、MYB52、及びPMEの活性調節により細胞壁の変化が、ブラシノステロイドシグナル伝達経路を活性化させ、ペクチン依存的な細胞壁の恒常性を維持するフィードバック制御が、水分屈性の発現の重力応答性に影響を与える可能性を検討している (図1)。また、細胞壁を構成するペクチンのメチル化の状態の変化は、細胞壁の力学的特性の変化を引き起こし、器官の伸展性等に影響を与えると予想される。そこで、MYB52、PME、及び、ブラシノステロイドが器官の力学的特性に与える影響を解析している。これらの解析を通じて、重力環境の変化に応答した、水分屈性を始めとした植物の器官の成長制御機構における、MYB52、PME、及び、ブラシノステロイドによる細胞壁の恒常性の維持の役割が明らかになると期待している。

### 3. 謝辞

本研究はJSPS 科研費 19K06329, 23H04186 (NF)、及び、JST 次世代研究者挑戦的研究プログラム JPMJSP2114 (BM) による助成を受けたものである。

### 参考文献

- 1) Kobayashi, A., Takahashi, A., Kakimoto, Y., Miyazawa, Y., Fujii, N., Higashitani, A., Takahashi, H. A gene essential for hydrotropism in roots, *Proc Natl Acad Sci USA*, **104**, 4724-4729 (2007).
- 2) Mizuno, H., Kobayashi, A., Fujii, N., Yamashita, M., Takahashi, H. Hydrotropic response and expression pattern of auxin-inducible gene, *CS-IAA1*, in the primary roots of clinorotated cucumber seedlings. *Plant Cell Physiol*, **43**, 793-801 (2002).
- 3) Nakajima, Y., Nara, Y., Kobayashi, A., Sugita, T., Miyazawa, Y., Fujii, N., Takahashi, H. Auxin transport and response requirements for root hydrotropism differ between plant species. *J Exp Bot*, **68**, 3441-3456 (2017).
- 4) Takahashi, H., Takano, M., Fujii, N., Yamashita, M., Suge, H. Induction of hydrotropism in clinorotated seedling roots of Alaska pea, *Pisum sativum* L. *J Plant Res*, **109**, 335-337 (1996).
- 5) Mao, B., Takahashi, H., Takahashi, H., Fujii, N. Diversity of root hydrotropism among natural variants of *Arabidopsis thaliana*. *J Plant Res*, **135**, 799-808 (2022).
- 6) Wormit, A., Usadel, B. The Multifaceted Role of Pectin Methyltransferase Inhibitors (PMEIs). *Int J Mol Sci*, **19**:2878 (2018).
- 7) Wolf S, Mravec J, Greiner S, Mouille G, Höfte H. Plant cell wall homeostasis is mediated by brassinosteroid feedback signaling. *Curr Biol*. **22**: 1732-1737 (2012)
- 8) He JX, Gendron JM, Yang Y, Li J, Wang ZY. The GSK3-like kinase BIN2 phosphorylates and destabilizes BZR1, a positive regulator of the brassinosteroid signaling pathway in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, **99**:10185-10190 (2002)
- 9) Miao, R., Wang, M., Yuan, W., Ren, Y., Li, Y., Zhang, N., Zhang, J., Kronzucker, H.J., Xu, W. Comparative Analysis of *Arabidopsis* ecotypes reveals a role for brassinosteroids in root hydrotropism. *Plant Physiol*, **176**, 2720–2736 (2018).
- 10) Takahashi H, Miyazawa Y, Fujii N. Hormonal interactions during root tropic growth: hydrotropism versus gravitropism. *Plant Mol Biol*. **69**: 489-502. (2009).