

活性酸素に応じた植物の成長と病害抵抗性の 天秤の傾きを調節する「かなめ」の発見

【ポイント】

- ・ 活性酸素に応答して、MYB30 転写調節タンパク質が様々な遺伝子の働きを制御し、根の細胞の伸長度合いを調節することを発見した。
- ・ 病害抵抗性が発揮される時にも、MYB30 の働きにより、根の細胞伸長が抑制されることを発見した。
- ・ 長年、独立に制御されていると考えられていた根の成長と病害抵抗性が、活性酸素のもとで MYB30 という一つの「かなめ」によって調節される仕組みを明らかにした。

【研究背景と内容】

植物の根は、個体全体を地下部から支えるだけでなく、土壌中の養分や水分を吸収して植物体全体に循環させる重要な器官です。それだけでなく、一度根付くと動けない植物にとっては、塩害や乾燥といった生育している土壌環境変化に鋭敏に応答するセンサーとしての重要な役割も果たしています。植物の根の成長を良くすることは、植物体全体の成長に繋がり、環境変動に左右されない十分な大きさの根の確保は、農業生産性の向上にとって、とても大切な課題です。

一般に、植物の根の成長はオーキシシンやサイトカイニンといった植物ホルモンの重要性が多く報告されていますが、近年になり、過酸化水素 (H_2O_2) や超酸化物 (O_2^-) といった活性酸素も、通常の根の成長に大事な役割を果たしていることが報告されるようになりました。活性酸素は、動物だと老化を引き起こすなど負の側面がよく知られています。活性酸素は非常に高い化学エネルギーを持っているため、様々な分子と反応し、その高い反応性のため細胞レベルでは細胞膜脂質、酵素タンパク質、DNA に到るまで多くの大切な生命分子を傷つけてしまいます。しかし、植物の根は活性酸素を利用して成長制御を行っていることがわかっています。また、成長制御だけではなく、植物は病原菌に攻撃された時にも活性酸素を発生させ、植物病害抵抗性を発揮していることも知られています。しかしながら、一般に植物は、病害抵抗性を発揮する時には成長を抑制してしまいます。すなわち、植物内の限られたエネルギーコストを成長にむけるか、病害抵抗性のような防衛にむけるかを天秤にかけています。植物では、成長制御と病害抵抗性は同じ活性酸素を使ってどのようにそれぞれを制御し合っているのかは不明でした。そこで、本研究では、まず、活性酸素による根の成長制御メカニズム、特に、活性酸素によって発現に影響を受ける遺伝子に着目してこのメカニズムの解明を目指しました。

大規模マイクロアレイを用いた網羅的遺伝子発現解析^{注1)}から、MYB30 という活性酸素に応答する転写調節タンパク質^{注2)}を選抜しました。この遺伝子が働かなくなった *myb30* 突然変異株や、人為的に MYB30 の機能を亢進させた *MYB30* 誘導発現株を用いたライブイメージング解析から、MYB30 は根の細胞伸長を抑制し、根の成長に関わることが明らかになりました(図 1)。さらに、高速シーケンサーを用いた網羅的遺伝子発現解析から MYB30 が極長鎖脂肪酸^{注3)}の輸送に関わる遺伝子発現を直接制御していることがわかりました。蛍光タンパク質を用いて遺伝子の機能する場所を調べると、極長鎖脂肪酸の輸送に関わる遺伝子が根で MYB30 と非常によく似た場所で機能していることも確認できました(図 2)。また、極長鎖脂肪酸の輸送に関わる遺伝子が働かなくなる突然変異株を用いた研究から、この遺伝子も MYB30 と同様に根の伸長に関わることも見出しました。

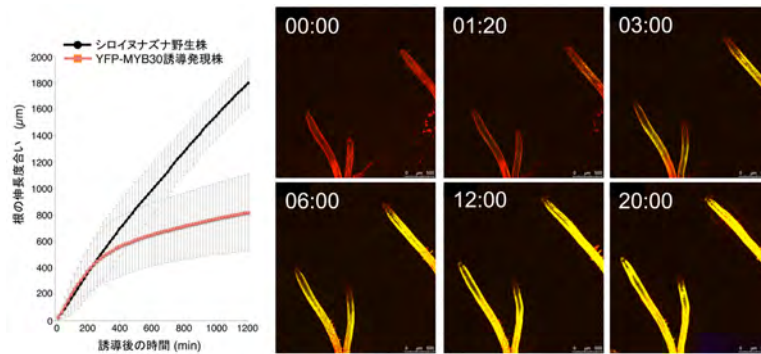


図 1. MYB30 誘導発現株を用いたライブイメージング解析。

MYB30 と蛍光タンパク質を融合させた遺伝子を薬剤誘導発現プロモーター^{注4)}下で薬剤誘導を行なったライブイメージング画像とその定量値です。グラフ中の黒い生育曲線がシロイヌナズナ野生型株、オレンジの生育曲線が MYB30 誘導発現株です。薬剤誘導後 300 分から、MYB30 誘導発現株では根の伸長抑制が見られます。右はライブイメージングのスチール写真です。MYB30 と融合させた蛍光タンパク質(黄色)の蓄積が薬剤誘導後 1 時間 20 分から観察されます。左上の数字はライブイメージング開始からの時間(時 : 分)を表しています。

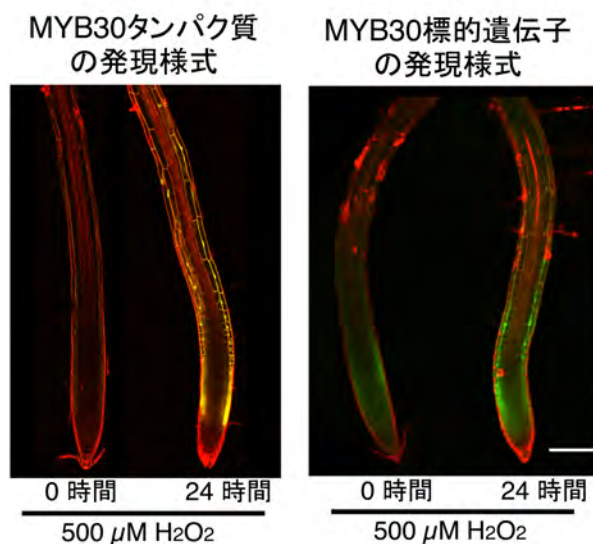


図 2. MYB30 とその標的遺伝子の根での発現様式。

蛍光タンパク質と MYB30 の融合遺伝子を自身のプロモーターで発現させた根(左;黄色)と、MYB30 標的遺伝子の一つである極長鎖脂肪酸の輸送に関わる遺伝子のプロモーターと蛍光タンパク質の融合遺伝子の根(右;緑色)での活性酸素応答性を調べました。どちらも活性酸素の一種である過酸化水素(H₂O₂)に反応して、根の同じ部位で遺伝子発現が強くなります。スケールバーは 100 マイクロメートル(μm)を表しています。

MYB30 は他の研究グループより、植物病害応答時に葉で病害抵抗性を誘導する重要な役割を果たすことが報告されていました。葉のような地上部では植物は病原菌に晒されると MYB30 が働き、極長鎖脂肪酸の合成を促します。また、この極長鎖脂肪酸の細胞外への輸送も促進し、病害に対抗する術を起動しています。実際に、極長鎖脂肪酸の輸送に関わる遺伝子が働かない変異株では、植物病原菌への感染抵抗力が下がることも報告されています。そこで、根で病害抵抗性が誘導された時に MYB30 が根の伸長を制御しているかを調べたところ、MYB30 は病原菌由来の物質である MAMP エリシター^{注5)}によって引き起こされる根での活性酸素レベル上昇に応答して細胞伸長を制御していることがわかりました。さらに、MYB30 の標

的である極長鎖脂肪酸の輸送に関わる遺伝子が、葉での病害抵抗性と同様に根の伸長制御に関わっていることもわかりました。

【まとめと今後の展望】

本研究では、長年、独立に制御されていると考えられていた植物の成長と病害抵抗性という異なる生命現象が活性酸素のシグナル下で MYB30 を介して制御されていることを明らかにすることができました(図 3)。植物は、成長と外敵からの防衛の 2 択に迫られ、どちらに優先的にエネルギーコストを注ぐかを天秤にかけています。すなわち、MYB30 が病害抵抗性と成長制御の天秤の傾きを調節している支点到に位置する「かなめ」であると言えます。この天秤の傾きをうまく調節することができれば、植物病害抵抗性と植物成長制御という二つの相容れない現象を人為的にコントロールすることが可能になります。活性酸素や MYB30 をターゲットにすることによって病害に晒されたとしても、病気に負けず、根張りが良いといった植物バイオマスの増産につながる応用展開が期待されます。同時に、この「かなめ」を標的とすることで、農薬ではない植物の持つ潜在能力を高めることができる植物活性化剤のような新しいタイプの代替薬(既存の農薬とは異なる薬剤)の開発も期待されます。つまり、病害抵抗性が必要な時にはその能力を高め、成長を促進したい時にはその能力を高めることが可能になると言えます。また、MYB30 といった単一のタンパク質が制御する遺伝子発現ネットワークや極長鎖脂肪酸輸送が異なる二つの植物生命現象に重要であるという報告は、基礎研究としても大変意義深いと言えます。

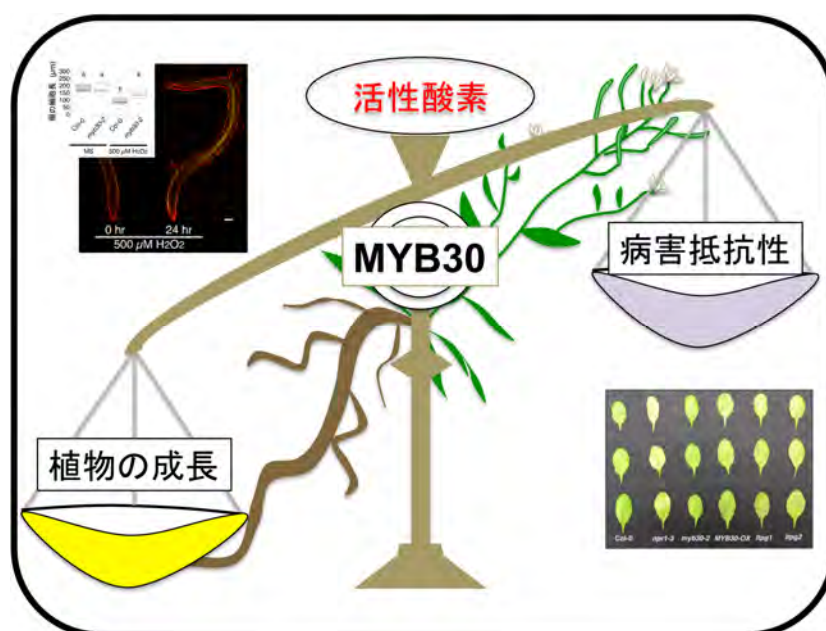


図 3. 活性酸素に応じた植物の根の成長と病害抵抗性の天秤の支点となる MYB30 の模式図

成長過程や病害抵抗時に産生された活性酸素は、MYB30 を通じて根の細胞伸長を制御し、地上部の葉でも MYB30 の働きによって植物免疫応答を起動します。一見すると、成長と防御といった異なる生命現象が、活性酸素に応答して機能を発揮する MYB30 を天秤の支点とすることで同時に制御されています。

【用語説明】

注 1: 網羅的遺伝子発現解析

生物の全遺伝子発現を一挙に調べる解析方法のこと。特定の生物種の mRNA 断片が貼り付けられたガラス基板(マイクロアレイ)を用いる方法や、高速シーケンサーを用いて全ての RNA 分子の塩基配列の解読と RNA 分子数を定量する方法が広く使用されている。

注 2: 転写調節タンパク質

遺伝子の発現は、その制御をつかさどる転写調節 DNA 配列に特定のタンパク質が結合し、その遺伝子の発現場所や量が調節される。この DNA 配列に結合し、遺伝子の発現を調節しているタンパク質を転写調節タンパク質という。MYB30 は転写調節タンパク質の一種で、標的遺伝子の MYB30 が特異的に認識する転写調節 DNA 配列に結合し、遺伝子発現を促進する役割を持つ。

注 3: 極長鎖脂肪酸

極長鎖脂肪酸 (Very Long Chain Fatty Acid; VLCFA) の定義は必ずしも統一されていないが、ここでは炭素鎖数が 20 以上の脂肪酸のことを指す。動植物において様々な生理活性や生体分子として重要で、植物の地上部では植物表面に存在するワックス層の原料となり、ワックス量が減少すると病害に弱くなることも知られている。

注 4: 薬剤誘導発現プロモーター

特別な薬剤処理を施すことで発現が誘導される人工合成プロモーター。植物では作用がないと考えられる動物ホルモン(今回はエストラジオール)処理に特異的に応答し、そのプロモーターの下流に融合した標的遺伝子のみを発現させることができる。

注 5: MAMP エリシター

病原微生物自体が持つ、宿主には存在しない特定の微生物間で保存されている、べん毛などの微生物関連分子パターン (Microbe Associated Molecular Pattern; MAMP)。植物はこの MAMP エリシターを細胞外で認識し、その情報を細胞内に伝達し植物免疫応答を示す。

【掲載雑誌、論文名、著者】

掲載雑誌 : Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America

論文名 : MYB30 Links ROS Signaling, Root Cell Elongation and Plant Immune Responses.

(MYB30 が活性酸素種シグナルと根の細胞伸長さらに植物免疫応答をつなぐ)

著者名 : 馬淵果穂¹、牧宏優¹、板谷知健²、鈴木孝征^{2,3,4}、野元美佳²、坂岡里実^{5,6,7}、森上敦⁷、東山哲也^{2,4,8}、多田安臣^{2,5}、Busch Wolfgang⁹、塚越啓央^{5,6,7}

1.名古屋大学大学院・生命農学研究科、2.名古屋大学大学院・生命理学研究科、3.中部大学、4.JST・ERATO 東山ライブホロニクス、5.名古屋大学・遺伝子実験施設、6.JST・さきがけ、7.名城大学・農学部、8.名古屋大学・ITbM、9.SALK institute

論文公開 : 平成 30 年 5 月 1 日 (日本時間午前 4 時)

DOI: [doi/10.1073/pnas.1804233115](https://doi.org/10.1073/pnas.1804233115)

■塚越准教授のコメント

学位取得後に留学したアメリカ Duke 大学時代(2007 年~2011 年)から植物の根の成長をつかさどる遺伝子発現ネットワークの解明を追求してきました。2016 年 4 月に名城大学准教授に着任し、研究室の蛍光顕微鏡などを用いて研究を継続、発展しています。環境変動に左右されない根張りの良い植物を作ることができれば、農作物の生産性向上に大きく貢献できます。