

科学研究費助成事業（基盤研究（S））公表用資料  
〔平成30年度研究進捗評価用〕

平成27年度採択分  
平成30年 3月 30日現在

細胞内膜系動態が支える植物の環境応答能力

Endomembrane-mediated organ straightening and defense in plants

課題番号：15H05776

西村 いくこ (HARA-NISHIMURA IKUKO)

甲南大学・理工学部・教授



研究の概要

植物の細胞内膜系（主に小胞体）の動態から、植物の環境応答能力と虫害応答能力に注目して、（1）環境刺激に応答した器官の屈曲（屈性）を抑制して植物の姿勢をまっすぐにする機構（**Straightening** と命名）と（2）幼植物体や根の表皮に分布する小胞体由来のオルガネラ（**ER ボディ** と命名）の形成機構と新規の化学防御系としてのしくみの解明を目指す。

研究分野：生物学・基礎生物学・植物分子生物・生理学

キーワード：環境応答、オルガネラ、植物微生物相互作用、植物分子機能

1. 研究開始当初の背景

植物科学研究は、環境ストレス応答や感染防御の分野で国際的に目覚ましい発展を遂げてきた。しかし、これらの課題に細胞内膜系の動態から迫ろうとする研究は少ない。研究代表者らの、(1) 傷害により誘導されるオルガネラ（ER ボディ）の発見（*Plant Cell Physiol.*, 2001）、(2) 液胞膜崩壊によるウイルス感染防御系の発見（*Science*, 2004）、(3) 液胞膜と細胞膜の融合による細菌感染防御系の発見（*Gene & Dev.*, 2010）などは、この分野の研究の流れを変えてきた。また、(4) 細胞骨格 Actin-Myosin XI 系による小胞体運動の発見（*Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2010）と(5) 細胞核の運動装置の発見（*Curr. Biol.*, 2013）も本研究課題のベースとなっている。

2. 研究の目的

本研究は、細胞内膜系、特に細胞内最大の表面積をもつ小胞体の動態から、植物の環境応答能力と虫害応答能力を解明することを目的としている。具体的には、（1）小胞体流動が駆動する原形質流動の生理学的意義と（2）小胞体がオルガネラを派生させる能力の理解を目指すとともに、それぞれの高次の機能、即ち、**Straightening** と ER ボディ生体防御系の分子基盤を明らかにする。具体的には、次の2つの課題に取り組む。

課題1. 環境応答能力：Actin-Myosin XI 依存的小胞体流動（原形質流動）と **Straightening**

植物の器官は光や重力等の環境刺激に応答して屈曲するが、植物は器官の屈曲を感知してこれを抑制するしくみ（**Straightening** と命名）をもつことが分かった（*Nature Plants*, 2015）。**Straightening** によって植物体は自らの姿勢を真直ぐに維持できるという仮説を提唱している。植物の基本的な成長原理に迫るしくみの解明を目指す。

課題2. 虫害応答能力：小胞体のオルガネラ形成能と ER ボディ

植物の小胞体が特殊化した機能をもつオルガネラを誘導する能力をもつことをこれまで示してきた。小胞体の複雑なネットワーク構造形成の分子機構を解明した上で、環境や生育段階に対応して様々なオルガネラを派生させる小胞体の柔軟性の理解を目指す。

小胞体から派生するオルガネラの一つである ER ボディは、幼植物体の表皮と根の表皮に分布する。環境ストレスを最も受けやすい表皮への配備されていることから、ER ボディ系は新しい虫害防御機構であるという仮説の証明を目指す。

3. 研究の方法

本研究課題は代表者らが発見した生理現象を対象としている。従って、既存の手法が存在しないため手法の確立から着手した。

課題1：Straightening の定量方法の確立、Straightening 不全変異体の取得、Straightening 司令塔細胞の Actin-Myosin

XI系のライブセルイメージング解析、機械刺激センサー候補遺伝子の解析を行った。

**課題2**：植食性昆虫による食害実験系の確立、メタボローム解析によるERボディが生成する忌避物質の同定を行った。ERボディ系については新規の防御機構としての働きを明らかにするために、食害の解析に向けて2つの実験系を確立した。オカダンゴムシを用いた行動実験系とハエの吻伸展反射応答実験系である。後者では、ハエの食欲に及ぼす植物由来の揮発性忌避物質の効果を定量した。

また、小胞体の複雑なネットワーク形成機構とその柔軟性を解明する目的で、これまでに独自に単離した小胞体関連遺伝子に注目して細胞生物学的解析を行った。

#### 4. これまでの成果

本研究の2つの課題の成果は下記の通りである。

**課題1**：Straighteningの既知の制御因子はActin-Myosin XI細胞骨格のみであった。本研究では、新たに2つの制御因子の同定に成功した。第一の因子はオーキシン輸送体ABC19である。ABC19は、Straighteningの司令塔細胞の原形質流動とActin線維束配向の調節にも必須であった。*abc19*変異体は、花茎のStraightening能力評価実験でStraightening不全を起こしたことから(図1)、ABC19がActin-Myosin XI細胞骨格を介してStraighteningを制御していることが分かった。

第二の因子として、Myosin XI結合タンパク質MyoB receptorsを同定した。Straighteningの制御因子Myosin XIと発現相関が高い4つのMyoB receptorsの欠損はStraightening異常を示した。MyoB receptorsは、オルガネラ膜とMyosin XIを繋ぐことで、オルガネラの原形質流動に貢献しているとされていることから、Straightening機構におけるオルガネラの関与の可能性が浮上した。

**課題2**：小胞体由来のERボディの主要構成成分 $\beta$ -glucosidaseはカラシ油配糖体(glucosinolates)を基質としていた。傷害を受けた細胞では、 $\beta$ -glucosidaseが液胞のglucosinolatesと反応して揮発性忌避物質を生産するというsingle-cell defenseを構築していることが分かった。アブラナ科特異的因子NAI2が $\beta$ -glucosidaseをERボディに隔離することで、細胞内での酵素反応を防ぎ、頑健なsingle-cell defenseを作り出していた。また、昆虫の行動実験から、ERボディ系が昆虫に忌避行動を起こさせることや昆虫の食欲を低下させることが明らかになった。

#### 5. 今後の計画

**課題1**では、Straighteningは器官屈曲の感知が引き金になることから、『器官屈曲の際に生じる細胞内のひずみが、機械刺激となってStraighteningを引き起こす』という仮説を立てた。この仮説の証明に取り組む。

**課題2**では、NAI2と $\beta$ -glucosidaseの2種類の遺伝子をアブラナ科以外の植物に導入することでERボディを形成させることに成功した。この人為的なオルガネラ誘導系を駆使して、小胞体からのオルガネラの形成機構の解明を目指す。

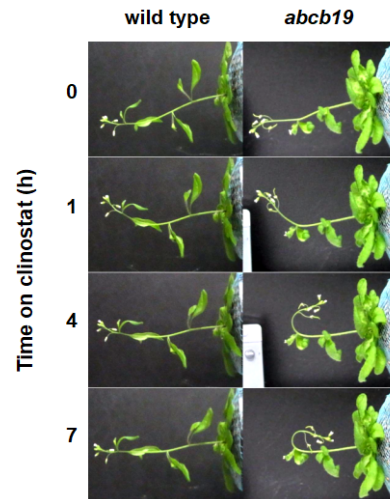


図1. 植物の花茎のstraighteningとそれを支えるオーキシン輸送体ABC19

疑似微重力条件下で水平に置いた植物の花茎の運動の様子。

左図(野生型植物)：一過的な重力刺激により花茎は屈曲し始めるが(1 h)、屈曲を感知するとプレーキ(Straightening)を発動し(4 h)、元の姿勢を取り戻してまっすぐ成長する(7 h)。

右図(*abc19*変異体)：一過的な重力刺激により屈曲し始めた花茎は(1 h)、その後も屈曲し続け(4 h)、最終的にコイル状になる(7 h)。ABC19はStraighteningを制御因子であることが分かる。

#### 6. これまでの発表論文等(受賞等も含む)

- Ueda H et al. (2016) Phosphorylation of the C terminus of RHD3 has a critical role in homotypic ER membrane fusion in Arabidopsis. *Plant Physiol.* 170: 867-880.
- Nakano RT et al. (2017) PYK10 myrosinase reveals a functional coordination between ER bodies and glucosinolates in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.* 89: 204-220.
- Hatsugai N et al. (2018) Involvement of Adapter Protein Complex 4 in hypersensitive cell death Induced by avirulent bacteria. *Plant Physiol.* 176: 1824-1834.

アメリカ植物生理学会 名誉会員賞  
(Corresponding Membership Award from American Society of Plant Biologists)、  
平成27年7月10日