

植物の枝分かれ制御ホルモン「ストリゴラクトン」の受容メカニズムを解明

～受容体タンパクがストリゴラクトンの受容と不活性化を担うことを発見～

【概要】

植物ホルモン^{*1}の一種である「ストリゴラクトン」は（図 1）、栄養環境に応じて植物の枝分かれを適切に制御する重要な分子です。東北大学大学院生命科学研究科の山口信次郎客員教授（現京都大学化学研究所・教授）と博士課程学生の安井令は明治大学農学部の瀬戸義哉専任講師（元東北大学生命科学研究科助教）らとの共同研究で、植物の枝分かれ制御ホルモン「ストリゴラクトン」の受容メカニズムを解明することに成功しました。

これまでに、ストリゴラクトンが植物ホルモンとして働く際には、DWARF14（以下D14）タンパク質が受容体として働くことが分かっていました。D14は、ホルモン受容体には珍しく、加水分解酵素ファミリー^{*2}に属しており、実際にストリゴラクトンを分解することが出来ます。しかしながら、D14によるストリゴラクトンの分解と、ホルモン信号伝達の関係性は十分に解明されていませんでした。山口教授らは、D14とストリゴラクトンの詳細な相互作用解析や、分解反応に必要なD14のアミノ酸残基を置換した変異型D14を利用した研究により、『D14はストリゴラクトン分子そのものを認識して信号を伝達し、その後ストリゴラクトンを分解して不活性化する』ことを突き止めました（図 2A）。

この成果は、ストリゴラクトンの受容メカニズムに基づいた、新たな枝分かれ制御法の開発などにつながることで期待されます。枝分かれは最終的な花や種子の数と質に影響を与えることから、枝分かれの制御を通じて、作物の増収やバイオマスの増産などが期待されます。本研究成果は、2019年1月14日午後7時に英国科学誌 *Nature Communications* に掲載されました。

【研究の背景】

植物の枝分かれ制御ホルモンの「ストリゴラクトン」は（図1）、栄養環境に応じて植物の枝分かれを適切に制御する重要な分子です。また、それだけではなく、ストリゴラクトンは根から放出され、植物にリンなどの無機栄養を供給してくれる共生菌であるアーバスキュラー菌根菌^{*3}を活性化し、共生を促す作用も有しています。その一方で、アフリカなどで大きな被害をもたらしている根寄生雑草ストライガ^{*4}は、このストリゴラクトンを感知して発芽し、作物などの根に食いついて、水や養分を奪って枯らしてしまうことが知られています。ストリゴラクトンが植物ホルモンとして働く際には、DWARF14（以下D14）タンパク質が受容体として働くことが分かっていました。ストリゴラクトン受容体D14は、加水分解酵素に属するタンパク質です。これまでの研究により、D14はストリゴラクトン存在下において、信号伝達におけるパー

トナータンパク質と複合体を形成し、それによってホルモン信号を伝達することが明らかとなっていました。一方で、D14とストリゴラクトンを混ぜた場合には、D14の有する酵素機能により、ストリゴラクトンが分解されることも知られていました。ホルモン分子に対して酵素としても作用できる受容体タンパク質は、植物ホルモンにおいては他に例を見ないものであり、D14の加水分解酵素としての機能と信号伝達能の関係性は、大きな議論になっていました。2016年には、D14がストリゴラクトンを分解する途中で、D14とストリゴラクトン分子の一部が結合した複合体を形成し、その際にD14タンパク質の形が変化することで、パートナータンパク質との相互作用が誘導されるという新たなモデルが提唱されました（図2B, Yao et al, *Nature*, 2016）。しかしながら、本仮説には幾つかの疑問点も残されており、更なる検証が必要だと考えられました。

【研究手法と成果】

研究グループは、まずD14とストリゴラクトンの相互作用の詳細な解析を実施しました。その際、受容体タンパク質の熱変性温度の変化を指標に、受容体-低分子の相互作用を評価することが出来るDifferential Scanning Fluorimetry (DSF) 法^{*5}を利用し、様々なストリゴラクトン類縁体分子とD14との相互作用を調べました。ストリゴラクトンはD14の熱変性温度を低下させることが知られていましたが、研究グループは、様々なストリゴラクトン類縁体の中でも枝分かれ抑制活性のあるストリゴラクトン類縁体によってのみ、D14の熱変性温度の低下が引き起こされることを突き止めました。すなわち、D14の熱変性温度の低下は、受容体として信号伝達可能な状態への変化と強い相関があると考えられました。続いて、DSF法による熱変性温度の低下と、D14によるストリゴラクトンの分解反応を継時的にトレースしました。すると、D14の熱変性温度の低下は、D14とストリゴラクトンを混ぜた直後において最も顕著であり、その後、ストリゴラクトンの分解が進行するにつれて、熱変性温度の変化も徐々に低下していくことが明らかとなりました（図3）。すなわち、基質であるストリゴラクトンの残存量と、熱変性温度の変化に極めて強い相関が見られました。この結果は、分解途中の中間体や、反応産物ではなく、分解される前のストリゴラクトンそのものがD14の熱変性温度の変化を誘導していることを示しています。

次に研究グループは、シロイヌナズナのD14を利用し、加水分解反応を触媒するために必要なアミノ酸残基に点変異を導入した変異導入型D14を複数作製し、その機能解析を行いました。その結果、全ての変異体タンパク質において、酵素機能の著しい低下が見られたのに対し、興味深いことに、そのうちの一つであるD218A変異体はシロイヌナズナのd14変異体植物の枝分かれ過剰な表現型を完全に相補することが分かりました（図4）。すなわち、この変異体においては酵素機能が消失したにもかかわらず、ストリゴラクトンを受容して信号を伝達する能力は保持していたということが出

来ます。以上の結果から、D14によるストリゴラクトンの分解は、ホルモン信号を伝達するためには必須ではないということが明らかとなりました。

また、D14はストリゴラクトンを分解することにより、信号を伝達し終わった分子を速やかに活性のない状態に代謝していることも見出しました。つまり、D14によるストリゴラクトンの分解は、信号を伝達して不要になったホルモン分子の不活性化のためであったということが出来ます。

【今後の期待】

今回の研究では、D14によるストリゴラクトンの分解はホルモンとしての信号を伝達することには必須ではなく、分解することでストリゴラクトンを不活性化していることが明らかとなりました（図1A）。すなわち、D14はストリゴラクトンの受容だけでなく、不活性化も担う、極めて新しいタイプの受容体だということが出来ます。これらの結果は、これまで提唱されていたメカニズム（図1B）を大きく覆すものであり、基礎科学的な観点からも極めて重要な成果です。また、今回明らかとなったD14の信号伝達メカニズムに基づき、受容体の機能改変や、D14に対してより強力に作用する分子の開発などが行われれば、植物の枝分かれを効率的に制御可能な技術の開発につながる可能性があります。枝分かれは種子の数や質を決める重要な因子であることから、作物の生産性の向上にもつながることが期待されます。また、アフリカで作物生産に甚大な被害をもたらしている根寄生植物においては、D14と良く似たタンパク質が発芽時においてストリゴラクトンを認識する受容体として機能することも明らかとなっています。今回、D14による信号伝達メカニズムが詳細に解明されたことにより、根寄生植物の受容体によるストリゴラクトン認識メカニズムの解明が進み、それによって根寄生植物の効率的な防除法が開発されることも期待されます。

【用語説明】

※1 植物ホルモン：植物の成長を制御する化学物質の総称。一般的に植物ホルモンは、植物でごくわずかしかな作られない。これまでに、オーキシシン、ジベレリン、サイトカイニン、エチレン、ジャスモン酸、アブシジン酸、ブラシノステロイド、ストリゴラクトン、サリチル酸に加え、幾つかのペプチドホルモンなどが発見されている。

※2 加水分解酵素ファミリー：基質分子に水を付加することで、分解する酵素ファミリー。反応を触媒するために、セリン、ヒスチジン、アスパラギン酸の三つのアミノ酸が協調的に働くことが必要であり、これらの三つのアミノ酸は、触媒三つ組み残基（catalytic triad）と呼ばれている。

※3 菌根菌：菌根を作って植物と共生する菌類のこと。土壌中の糸状菌が、植物の根の表面または内部に着生したものを菌根という。菌根菌は、植物に着生後、土壌中に菌糸を張り巡らし、主にリン酸や窒素を吸収して宿主植物に供給する。代わりにエネルギー源として、植物が光合成により生産した糖などの炭素化合物を得る。そのため、植物は菌根菌と共生することにより、栄養分の乏しい土地での育ちが改善される。

※4 根寄生雑草ストライガ：別名「ウィッチウィード」（魔女草）とも呼ばれる根寄生性雑草。植物から分泌されるストリゴラクトンを認識して発芽して、近くの植物の根に寄生し、宿主植物から栄養を吸収する。ストリゴラクトンがなければ発芽できず、種子の状態でも何年も休眠したまま生存し続ける。ストライガに寄生された植物は著しく生育が抑制される。特にアフリカでは、ソルガムやトウモロコシなどの農作物における被害が大きく、ストライガの撃退は食糧生産上、重要な課題となっている。ストライガは主に単子葉植物に寄生するが、双子葉植物に対する寄生雑草としてはオロバンキ（ヤセウツボ）が知られている。

※5 DSF法：タンパク質の熱変性温度を測定する手法。タンパク質サンプルに、変性したタンパク質と結合して蛍光を発する試薬を混ぜておき、徐々に熱をかけながら蛍光を測定することで、タンパク質の熱変性温度を測定することが出来る。グラフにおけるピークの頂点に相当する温度が、熱変性温度に相当する。

【図】

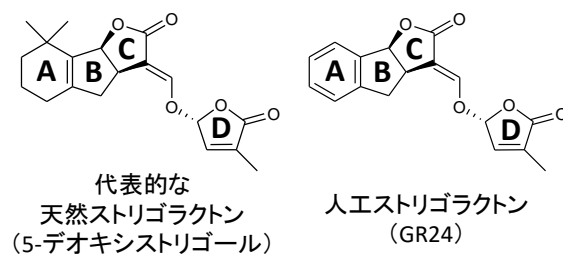
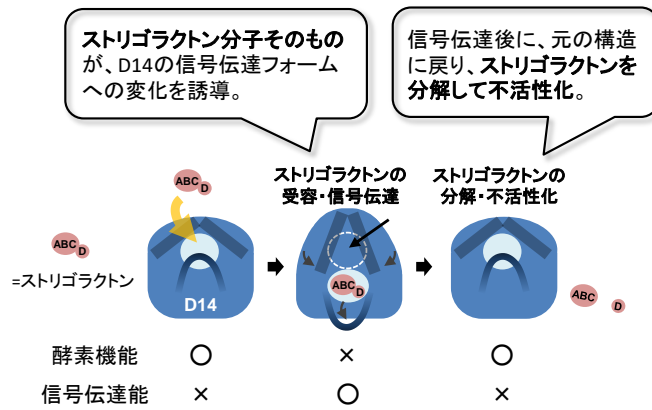


図1、ストリゴラクトンの化学構造。従来から良く知られるストリゴラクトン類は、ABC環とD環が連結した構造を有する。

A. 今回明らかになったメカニズム



B. Yaoらによって提唱されたメカニズム

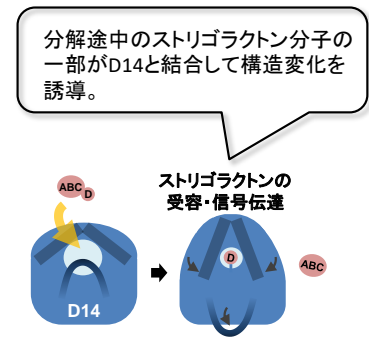
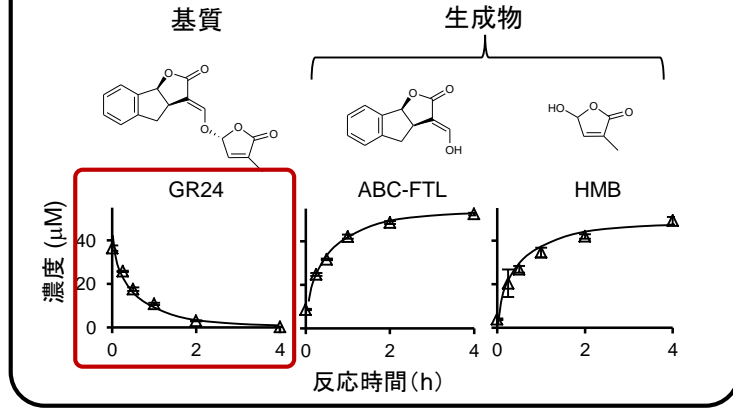


図2、今回新たに提唱したD14によるストリゴラクトン信号伝達メカニズムのモデル図 (A) とこれまでに提唱されていたメカニズムのモデル図 (B)。

ストリゴラクトン分解の経時変化

→基質の減少に伴い、二つの化合物が生成。



基質の残量と、温度シフトに強い相関

熱変性温度シフトの経時変化

→反応開始直後に温度シフトが最大になり、徐々にコントロールの熱変性温度に戻る。

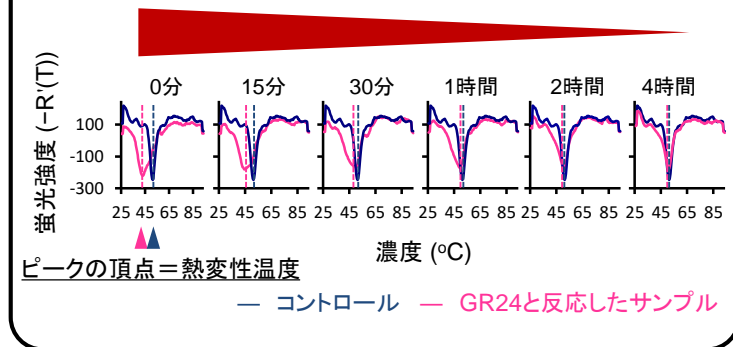
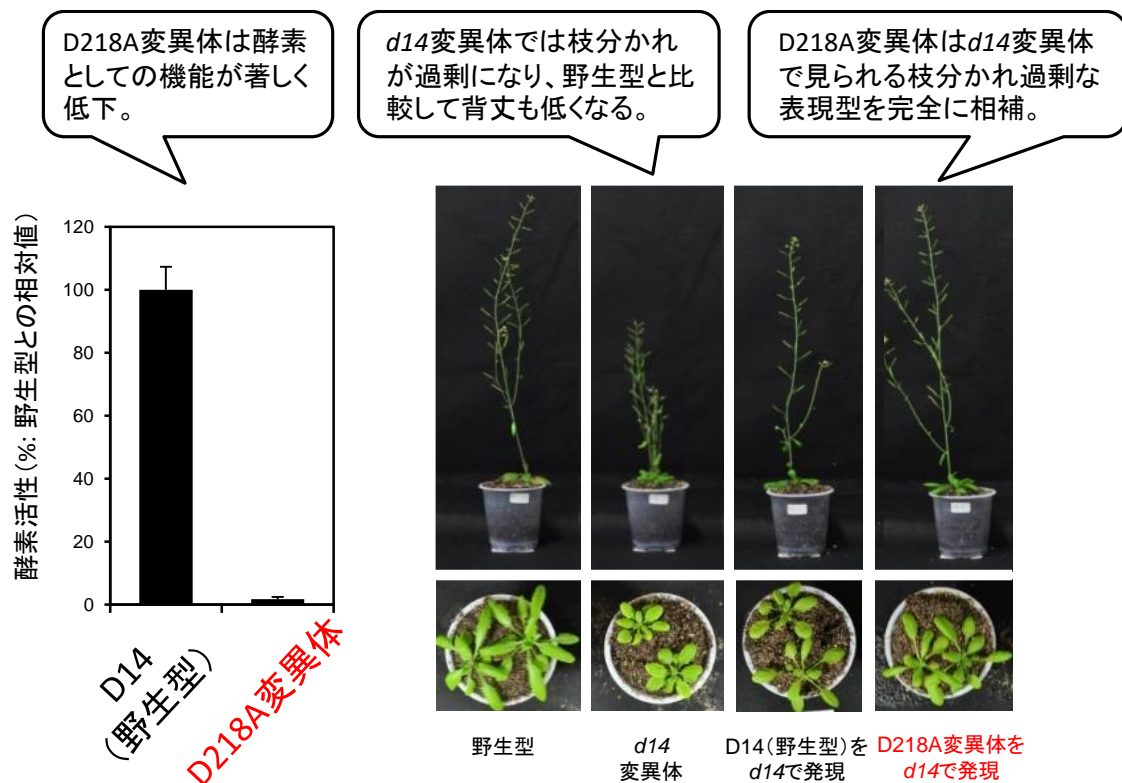


図3、D14によるストリゴラクトンの加水分解の経時的な解析（左）と、DSF法によるD14の熱変性温度変化の経時的な解析（右）の比較。



D218A変異体は、酵素としての機能を持たないにも関わらず、受容体としての機能を保持。
 →酵素機能は、受容体としての機能に必須ではない。

図4、加水分解能が劇的に低下した点変異導入AtD14 (AtD14^{D218A}) によるシロイヌナズナ *d14* 変異体の表現型の相補。

【論文情報】

題目 : Strigolactone perception and deactivation by a hydrolase receptor DWARF14
 著者 : Yoshiya Seto*†, Rei Yasui*, Hiromu Kameoka, Muluneh Tamiru, Mengmeng Cao, Ryohei Terauchi, Akane Sakurada, Rena Hirano, Takaya Kisugi, Atsushi Hanada, Mikihisa Umehara, Eunjoo Seo, Kohki Akiyama, Jason Burke, Noriko Takeda-Kamiya, Weiqiang Li, Yoshinori Hirano, Toshio Hakoshima, Kiyoshi Mashiguchi, Joseph P. Noel, Junko Kyozuka, Shinjiro Yamaguchi† (*共筆頭著者、†共責任著者)
 雑誌 : *Nature Communications*.
 DOI : <https://doi.org/10.1038/s41467-018-08124-7>