

関西学院大学 研究成果報告

2019年 5月 7日

関西学院大学 学長殿

所属：理工学部
職名：准教授
氏名：武田直也

以下のとおり、報告いたします。

研究制度	<input type="checkbox"/> 特別研究期間 <input type="checkbox"/> 自由研究期間 <input type="checkbox"/> 大学共同研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個人特別研究費 <input type="checkbox"/> 博士研究員 ※国際共同研究交通費補助については別様式にて作成してください。
研究課題	植物－微生物共生シグナルへのジベレリンシグナル干渉機構の解明
研究実施場所	神戸三田キャンパス 理工学部 4号館
研究期間	2018年 4月 1日 ～ 2019年 3月 31日 (12ヶ月)

◆ 研究成果概要 (2,500字程度)

上記研究課題に即して実施したことを具体的に記述してください。

マメ科植物は光合成産物と引き換えに根粒菌との根粒共生により窒素、アーバスキュラー菌根菌（以下、菌根菌）との菌根共生によりリンを、それぞれ「根粒」や「樹枝状体」などの共生器官を介して効率的に得ることができ、植物の生育・環境適応に大きく貢献している。植物ホルモンであるジベレリン（GA）は、根粒・菌根共生双方のシグナル伝達に干渉し、共生遺伝子発現を変化させることで、共生菌感染や共生器官形成に大きな影響を与えていると考えられる。本研究ではこのGAシグナルによる共生シグナルへの干渉作用の解析によって、根粒・菌根共生シグナルネットワークとGAシグナルの接点となるシグナル因子を同定し、その機能を解明することで、GAを介した共生シグナル制御の分子機構を明らかとする。

GA濃度変動により影響を受ける共生遺伝子の網羅的な探索に関しては、マメ科モデル植物ミヤコグサ(*Lotus japonicus*)で行っていたRNA-Seqを用いたトランスクリプトーム解析データより、共生遺伝子の中でGA濃度変化（GA添加、GA合成阻害剤の添加）によって発現変動を示す遺伝子群を同定することができた。

これらの遺伝子は、代謝酵素遺伝子や転写因子などのシグナル伝達に関与するものなど多岐にわたっていた。その中で、我々は細胞壁合成系の遺伝子群に注目した。AM菌の菌糸の植物体内における伸長の際には宿主植物の細胞間隙：細胞壁と細胞壁の間を縫うように伸長しつつ、時折、細胞内へ陥入・貫通して菌糸分岐を行う。そのため菌糸伸長には宿主細胞壁の変化を伴うことが推察される。一方、GA添加によってAM菌の感染は阻害を受けるが、それは表皮細胞における菌糸侵入率の低下が原因であり、一度、宿主植物根内に侵入した菌糸は、GA添加によってむしろ分岐伸長が促進される。このようにGAシグナルによる細胞壁合成遺伝子群の変動と、実際の根における共生表現型の変化は密接に関係することが予想されたため、この細胞壁関連酵素遺伝子の研究にも発展させていく予定である。

GAシグナルにより変動する既知の共生遺伝子とそのプロモーター領域の解析では、特定したシス制御領域との相同性を、上記の新たに同定した共生遺伝子群のプロモーター領域と比較した。この解析ではいくつか相同性の高い配列を持つ領域を特定することができたが、既知のシス制御領域は数十bpから百bp以上の配列であり、ミスマッチをある程度許した比較では保存されている領域があるように見えてしまう。そのため、シス制御領域をさらに狭める実験が必要であり、その解析を行うことにした。同じ理由で、酵母1ハイブリッドによるトランス因子の探索についても、シス制御領域をさらに狭め、数bpのシスエレメントの特定に至ったのちに行うこととした。

一方、GA添加によって根粒共生遺伝子*NIN*のもつGA応答性のシス領域については、根粒共生におけるこのシス領域がもつ機能を解明するため、ゲノム編集技術であるCRISPR/Cas9システムを用いて、プロモーター領域からシス領域を欠損させたミヤコグサ変異体の作成に成功した。この変異体を用いて、GAへの応答性や根粒共生表現型の変化を解析したところ、GA応答による発現誘導能の低下や、根粒形成数の増加などが見られた。この結果からGA応答による*NIN*の発現によって根粒形成を抑制する機能が存在することを示し、さらに詳細な解析によって、共生に存在するフィードバック抑制機構であるAuto regulation of nodulationを介してGAは根粒形成を抑制することを明らかとした。現在、この成果については論文を投稿中である。その他にも菌根共生遺伝子である*RAMI*についても、GA応答性のシス領域を欠損させた変異体の作成に成功しており、この変異体についての表現型解析などを通して、そのシス領域と上流のGAシグナル伝達機構の共生における機能の解明を行っていく。

GAシグナルと共生シグナルとの干渉機構については、これらの解析によってその一部が明らかとなったと考えている。しかし、本課題期間中だけでは解明に至っていないメカニズムも多くあり、今後もこの研究を継続して行い、GAによる共生制御システムの全容解明に取り組んでいく。

以上

提出期限：研究期間終了後2ヶ月以内

※個人特別研究費：研究費支給年度終了後2ヶ月以内 博士研究員：期間終了まで

提出先：研究推進社会連携機構（NUC）

※特別研究期間、自由研究期間の報告は所属長、博士研究員は研究科委員長を経て提出してください。

◆研究成果概要は、大学ホームページにて公開します。研究遂行上大学ホームページでの公開に支障がある場合は研究推進社会連携機構までご連絡ください。