

植物の草丈を 150%増大させる新しいブラシノステロイド因子を発見

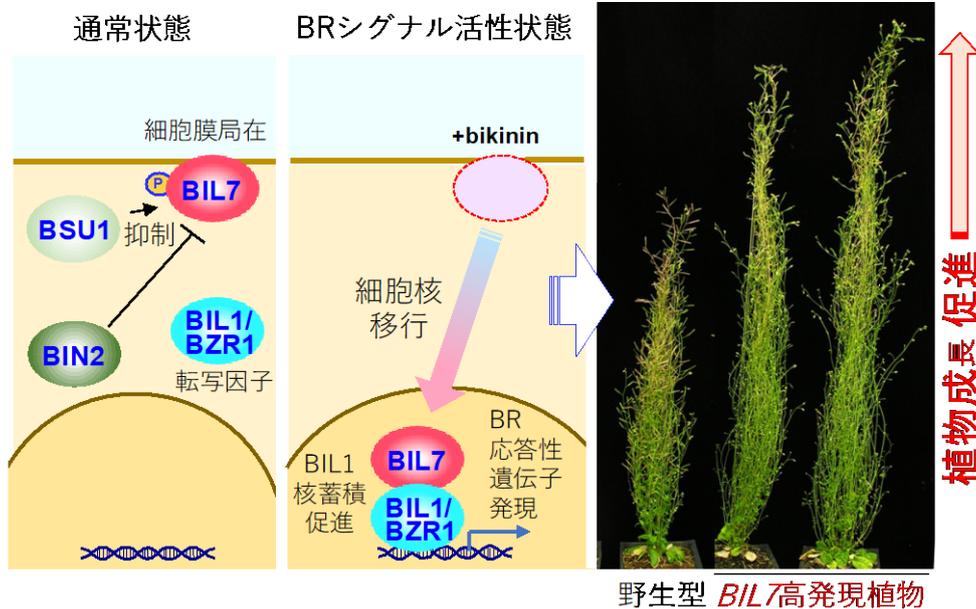
概要

ブラシノステロイド (BR) は、植物の葉・茎・根の器官伸長など、植物形態形成を促進的に調節する植物ステロイドホルモンです。BR は受容体やその下流の転写因子は知られていましたが、BR による植物成長の制御機構においては未だ知られていない因子の存在が予測され、その分子実態が探されていました。

京都大学大学院生命科学研究所 山上あゆみ 助教、中野雄司 教授、宮川拓也 准教授、仲村友介 (当時修士課程学生)、西田快世 (博士課程学生)、理化学研究所 宮地朋子 (当時理研/東大博士課程学生)、東京大学 浅見忠男 教授らの共同研究グループは、植物成長の特に草丈を野生型の約 150%に増大させる新規因子 BIL7 を、BR 生合成阻害剤 Brz を用いたケミカルバイオロジー研究によって発見しました。BIL7 は、通常は細胞膜に局在しながら、BR シグナル伝達の活性化により核に移行し、その際に BR シグナル伝達のマスター転写因子 BIL1/BZR1 と結合して、その核移行およびタンパク質の安定化を促進化する機能を持ち、そのダイナミックな分子機能によって植物草丈を大きく増大させる能力を持つ新規な因子であることが明らかとなりました。

本研究による BIL7 の発見は、植物成長促進における分子機構の解明、その機能を活用した植物バイオマスや穀物生産が増大化した新植物の創製を目指す新技術開発、などに繋がると期待されます。

本成果は、2024 年 12 月 20 日 (現地時間) に国際学術誌「The Plant Journal」にオンライン掲載されました。



BIL7 の機能発現モデルと BIL7 高発現植物の示す成長促進形態

- (左) 通常状態では BIL7 は細胞膜にアンカーされている (中) BIL7 は BR シグナルの活性化に伴い核へ移行し、BR シグナルのマスター転写因子 BIL1/BZR1 の核内移行と安定化を促進させる (右) その結果、植物成長の促進が引き起こされる

1. 背景

ステロイドホルモン^{*1}は動物、昆虫から植物まで幅広く存在する生理活性化合物であり、植物ではブラシノステロイド(BR)^{*2}と呼ばれる化合物が1970年代に発見されています。ブラシノステロイドは、植物における生理活性化合物群を総称する植物ホルモン類にも分類されており、植物においては葉・茎・根などの器官伸長の促進、環境ストレス耐性向上、病害抵抗性向上、など幅広い植物成長ステージにおいて重要な働きを示す生理活性を持つ化合物であることが近年の研究によって明らかとなってきました。

BRのシグナル伝達機構においては、細胞膜局在性のSer/ThrキナーゼであるBRI1(Cell, 1996)、また中野らによってBRシグナル伝達マスター転写因子BIL1/BZR1(Dev Cell, 2002)が単離されていましたが、その二つを繋ぐシグナル伝達の間接領域には未知の詳細な制御機構の存在が予測されていました。特にBIL1/BZR1はBR刺激によって細胞質から細胞核へ移行するという特徴的な動態を示しますが、その制御機構については未解明部分が残っていました。

また、BR生合成酵素遺伝子の高発現型植物は草丈の伸長した形態を示しますが、マスター転写因子と考えられているBIL1/BZR1の単独高発現化だけではそれほどの草丈伸長が見られず、このBRによる植物成長促進活性においては未知の因子が存在すると考えられていました。

中野雄司教授らの研究グループは、このBRシグナル伝達中流領域で働く植物成長促進の鍵遺伝子の探索を目指すところから研究を始めました。

2. 研究手法・成果

本研究では、ブラシノステロイド生合成阻害剤Brz^{*3}によって暗所発芽した野生型植物の胚軸が短化する現象に着目し、Brzに耐性を示し胚軸徒長形態を示す実験植物アラビドプシス突然変異体の探索、単離、原因遺伝子の同定を行うことによって、植物成長促進の鍵遺伝子候補として、*BIL7* (*Brz-insensitive-long hypocotyl7*) を発見しました。この*BIL7*遺伝子は植物種に進化的に幅広く保存されながら、既知の機能ドメインの認められない新規タンパク質をコードしていました。続いて*BIL7*高発現型突然変異体および*BIL7*高発現型形質転換体では、最終的な草丈が野生型の約150%に増大すること、*BIL7*低発現型形質転換体では草丈が野生型の約80%に低下することが明らかになりました。さらに、*BIL7*高発現型突然変異体では花茎の細胞総数が増加すること、*BIL7*低発現型形質転換体では細胞長が減少することも明らかとなりました。また、器官別発現では、*BIL7*遺伝子は発生初期の花茎や胚軸、根端に強く発現し、成長後期の器官では発現が検出されないことも確認されました。これらの結果より、*BIL7*は植物器官の発生初期に発現し、細胞伸長および細胞分裂の活性化を介して、植物成長を促進させる機能を持っていると考えられました。

研究のこの時点で、*BIL7*はアミノ酸配列を眺めただけでは、既に知られている転写因子やタンパク質キナーゼなどの機能ドメインが見当たらなかったため、どのような分子機能を持っているか判りませんでした。ただし、*BIL7*高発現化が引き起こす植物成長の著しい促進活性は、この*BIL7*が植物成長にとって重要な役割を果たしていることを示しており、私たちが勉強不足、研究不足であることが自明となりました。そこで、細胞内の局在性を調べたところ、通常状態では細胞膜に局在し、細胞伸長の極初期において細胞核に移動する性質を持つことも明らかとなりました。そこでBRシグナル伝達の間接領域で働くことが知られていたタンパク質キナーゼBIN2、タンパク質フォスファターゼBSU1との関係性を調べたところ、それぞれと直接相互作用し、*BIL7*はこの2因子によってリン酸化制御を受けていることが明らかとなりました。このBIN2には特異的阻害剤が存在するため、その阻害剤bikininを植物に処理を行ったところ、細胞膜に局在していた*BIL7*が、細胞質へ移行するという観察像が得られました。すなわち、BRシグナルが活性化する状況

において、BIL7 は細胞膜から細胞核へ移行するというダイナミックな動態を示すタンパク質であることが明らかとなったのです（図1）。

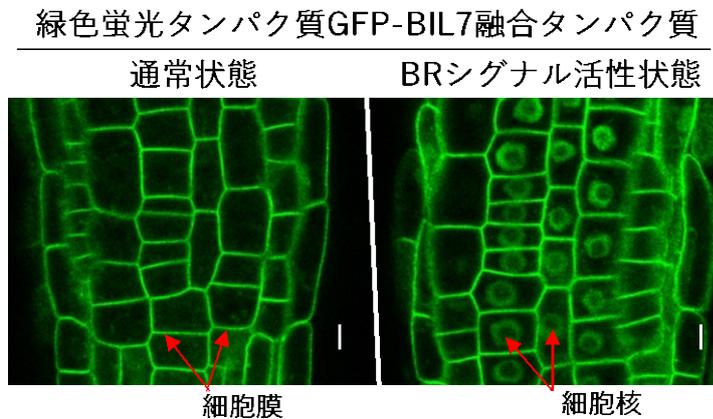


図1 BIL7-GFP 蛍光タンパク質は、ブラシノステロイドシグナル伝達の活性化化合物 bikinin 処理によって細胞膜から細胞核へ移行する

植物の根の細胞は、静止中心近傍において発生し、何回かの細胞分裂を終えた後に、細胞伸長が開始する、という成長段階を示すことが知られています。BIL7 タンパク質の詳細な細胞内局在を解析したところ、この細胞伸長が開始されるというタイミングで細胞核に移行する性質を持っていることが判りました。驚くべきことに、この細胞伸長が開始されるタイミングで核へ移行するという性質は、BR シグナル伝達のマスター転写因子 BIL1/BZR1 の核移行が開始される性質と全く同一のものでした。そこで、その関係性を調べたところ、BIL7 と BIL1/BZR1 は直接相互作用し、BIL7 高発現条件下では BIL1/BZR1 の細胞核局在が増加し、さらに BIL1/BZR1 のタンパク質蓄積量が増加することが明らかとなりました。

これらの知見を統合すると、BIL7 は BR シグナル伝達の活性化によって細胞膜から細胞核へ移行し、その際に BR シグナル伝達のマスター転写因子 BIL1/BZR1 と結合して、その核移行およびタンパク質の安定化を促進する機能を持ち、その連続的な機能によって植物草丈を大きく増大させる能力を持つ新規な因子であると考察されました。

最後に *BIL7* 高発現型突然変異体と *BIL1/BZR1* 高発現型突然変異体の 2 重突然変異体を作製すると、暗所 Brz 条件下において、現存する BR シグナル伝達や生合成の活性型植物のいずれと比べても最も長い胚軸伸長形態を示すことが明らかとなり、この 2 因子が協調的に活性化する時、植物成長は極めて強く促進されると考察されました（図2）。



図2. BIL7 高発現植物と BR シグナル伝達マスター転写因子 BIL1/BZR1 の2重変異体は現存最長レベルの Brz 耐性胚軸伸長形態を示す

3. 波及効果、今後の予定

本研究で得られた BIL7 は、BR シグナル伝達経路上におけるマスター転写因子 BIL1/BZR1 の核移行とタンパク質安定化を推進し、植物成長を促進させる機能を持つ新規因子であることが明らかとなりました。BIL7 は既知の機能ドメインを持たないため、そのタンパク質因子としての機能解明、マスター転写因子 BIL1/BZR1 の詳細な制御機構についての解明などにおいては、まだ研究を掘り下げなければならない部分も多く残っており、その解明は植物成長機構の基礎研究分野において重要なものになると考えられます。さらに、その機能解明と並行して、BIL7 遺伝子の持つ強い植物成長促進能は、実用植物への展開などによって新植物創製に繋がる応用研究としての波及効果も期待されます。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は、以下の研究費などの支援を受けて実施されました。

科学技術振興機構 (JST) 戦略的創造研究推進事業 (CREST) 「二酸化炭素資源化」、日本学術振興会 科学研究費助成事業 (21K19077, 21H02114, JP24H00502)、生研支援センター・イノベーション創出強化研究推進事業。

<研究者のコメント>

「地球温暖化とそれに伴う異常気象や食糧不足が深刻化する現代において、大気中の二酸化炭素を吸収し植物体に固定するシンク能力を高める植物成長促進機構、食糧生産に向けて植物バイオマスの向上化を進め得る植物成長促進機構の研究は一層重要になると考えられます。本研究によって得られた BIL7 は、BR シグナル伝達の中流域で中心的な働きを示す因子を発見したという基礎研究の観点から重要な基点になると考えていますが、同時に植物成長制御技術の開発においても役立つ可能性が期待出来る遺伝子と考えられるため、地球環境改善・食糧増産などに貢献する応用研究へも発展させて行きたいと考えています。」 (中野雄司)

<用語解説>

※1. ステロイドホルモン

多細胞生物が種を越えて広く持っている生理活性化合物。ステロイド骨格と呼ばれる4環性骨格を持つ。哺乳類では筋肉などを作る男性ホルモンのテストステロン、妊娠の維持に関わる女性ホルモンのプロゲステロン、昆虫では脱皮に関係するエクダイソン、植物ではブラシノステロイドが知られている。各生物種において細胞伸長や細胞分裂など、生物種を越えた共通の生理活性を持つと同時に、各生物種に固有の生理活性を持つ化合物。

※2. ブラシノステロイド (BR)

1979年にアメリカ農務省の研究グループがアブラナの花粉から発見し、化学構造を決定した植物ホルモンの一つ。植物に対しては、細胞伸長や細胞分裂の促進など細胞レベルの促進的作用や、子葉の開化、胚軸の伸長、維管束の分化、緑葉の上偏成長、葉柄の伸長、茎の伸長など器官レベルの制御作用、また、ストレス耐性の付与（耐冷、耐塩、耐乾燥）や植物病害抵抗性の促進（植物自然免疫の活性化）、葉緑体発達や光合成の制御など、さまざまな生理作用を示す。

※3. Brz

BR生合成酵素DWF4を特異的に阻害する化合物。1998年に理化学研究所の浅見忠男博士（現：東京大学大学院農学生命科学研究科）らが創製した。Brzを植物に処理すると、植物をBR生合成欠損変異体と同じような形・大きさ・葉色にすることが可能である。

<論文タイトルと著者>

タイトル BIL7 enhances plant growth by regulating the transcription factor BIL1/BZR1 during brassinosteroid signaling.

（BIL7は光とブラシノステロイドのシグナル伝達下流において転写因子BIL1/BZR1を制御することにより植物成長を促進させる）

著者 Tomoko Miyaji^{b,1}, Ayumi Yamagami^{a,b,1}, Yusuke Nakamura^a, Kaisei Nishida^a, Ryo Tachibana^a, Surina Surina^a, Shozo Fujioka^b, Mariano Garcia-Hourquet^c, Santiago Mora-García^c, Shohei Nosaki^{d,e}, Takuya Miyakawa^{a,d}, Masaru Tanokura^d, Minami Matsui^f, Hiroyuki Osada^{b,g}, Kazuo Shinozaki^b, Tadao Asami^{d,h}, and Takeshi Nakano^{a,b,*}

所属 ^a Grad. School of Biostudies, Kyoto Univ.

^bRIKEN Center for Sustainable Resource Science.

^cFundación Instituto Leloir, Argentina.

^dDepartment of Applied Biological Chemistry, The University of Tokyo.

^eFaculty of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba.

^fSynthetic Genomics Research Group, RIKEN Center for Sustainable Resource Science.

^gInstitute of Microbial Chemistry (BIKAKEN).

^hKing Abdulaziz University, Department of Biochemistry, Saudi Arabia.

¹T.M. and A.Y. contributed equally to this work.

* Author for correspondence

掲載誌 *The Plant Journal*

DOI 10.1111/tpj.17212