

## 世界初！ジベレリン受容体の 進化の全貌を解明

～酵素を起源とする誕生から双子葉植物における多様化まで～

この度、名古屋大学生物機能開発利用研究センターの 上口(田中)美弥子 准教授、同大学大学院生命農学研究科博士後期課程学生(当時)の 吉田 英樹さんらの共同研究グループは、植物の成長ホルモンであるジベレリン<sup>注1)</sup>受容体 GID1 の誕生から多様化までの進化の全貌を明らかにすることに世界で初めて成功しました。これにより、今後、植物の生殖や形作りの制御に応用することが期待されます。

この研究成果は、平成 30 年 7 月 31 日付(日本時間 4 時)に、米国科学雑誌 Proceedings of the National Academy of Sciences 電子版に掲載されました。

### 【ポイント】

1. 植物の成長ホルモンであるジベレリンの受容体 GID1 について、様々な植物<sup>注2)</sup>(コケ、シダ、裸子、単子葉、双子葉植物)の中での状態を調べることで、GID1 がどのように変化し、植物進化に貢献したかを研究した。
2. 植物の進化過程で、GID1 は小型(小葉)シダ植物が出現する際に誕生し、誕生以降もジベレリンとの結合を向上させる一方、ジベレリン類を見分ける能力を獲得し続けた。
3. GID1 機能向上と新しいジベレリン類の登場は、協調的に行われた(共進化)。
4. 単子葉類以前の植物は GID1 をそれぞれ 1 種類しか持たないのに対して、双子葉植物は 2 種類の GID1 (A、B 型)を持つ。
5. A は地上部(葉や茎)、B は地下(根)で働いている GID1 であることがわかり、B 型からさらに進化した GID1 も作った。この多様化によって、自身の体の大きさを柔軟に制御できるようになり、環境適応性を獲得した。

## 【研究背景】

ジベレリンは、植物ホルモンの1つで、植物の成長の調節、生殖機能、発芽のオンオフなどに関与します。2005年名古屋大学の当グループにより、ジベレリン受容体 GID1 が発見され、2008年には X 線結晶解析による受容体の構造が報告されました。本研究は、これらの知見を基に、生化学的、分子進化的解析を行うことで、GID1 受容体がどのように誕生し、進化したかを明らかにしたものです。

## 【研究内容】

### プロトタイプ GID1 受容体の誕生[小型(小葉)シダ植物の時代]

GID1 受容体は、カルボキシエステラーゼという微生物から動物、植物まで広く存在している酵素から進化し、酵素が基質と結合するポケットに相当する場所でジベレリンと結合します。GID1 とカルボキシエステラーゼの類縁関係を調べたところ、カルボキシエステラーゼの一部から、小型(小葉)シダ植物が誕生すると同時に GID1 受容体が出現したことが解りました。

カルボキシエステラーゼと GID1 の構造はよく似ていますが、細かく見るといくつかのアミノ酸に違いが見つかります(図 1)。この両者間で異なるアミノ酸が GID1 出現にどのように貢献したかを調べるため、GID1 のそれらのアミノ酸が無くなった GID1 をイネの中に 1 つ 1 つ入れてあげることでアミノ酸の効果を調べました。その結果、どの GID1 を導入したイネも正常イネ(OsGID1 と記載した植物)のように成長出来ず、これらのアミノ酸への変化が GID1 出現に重要だったことが分かりました。

この結果から、カルボキシエステラーゼの酵素機能を担うアミノ酸を少しずつ変えることで徐々に酵素からジベレリンの受容体に進化したことが確認されました。

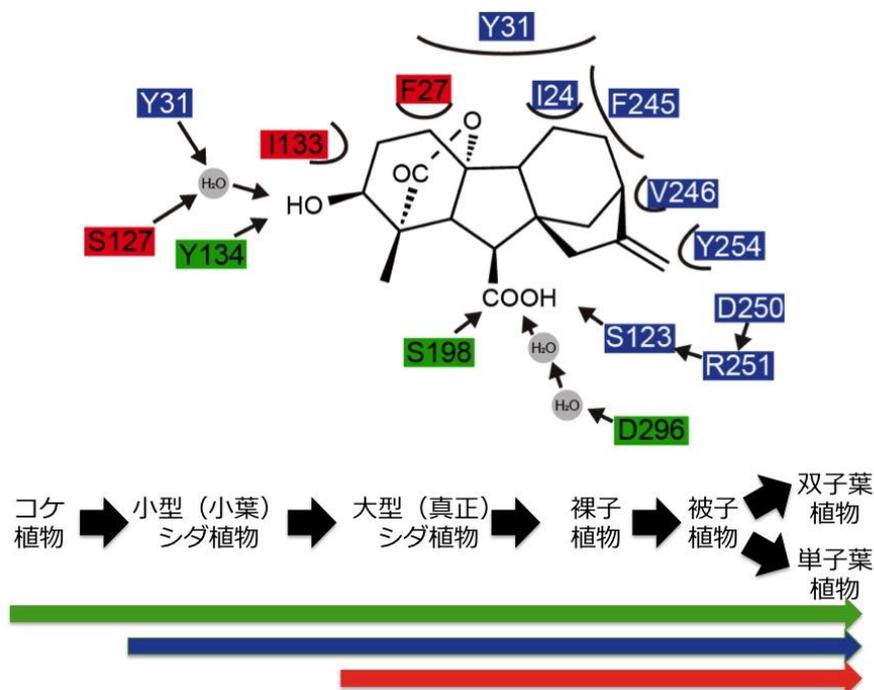


図 1 GID1 受容体ができるときにどのアミノ酸が必要だったのか？

上図は、ジベレリンの結合にかかわるアミノ酸。緑はコケ植物のカルボキシエステラーゼから存在していたアミノ酸、青が小型(小葉)シダ植物のプロトタイプ GID1 受容体に存在していたアミノ酸、赤が大型(真正)シダ植物から存在するようになったアミノ酸。

## プロトタイプ GID1 から完成型 GID1 へ

先に述べたように、GID1 出現には、祖先タンパク質であるカルボキシエステラーゼのいくつかのアミノ酸が変わることが必須でした。その一方で、小型(小葉)シダ植物のプロトタイプ GID1 受容体には被子植物の GID1 とはいくつか異なる箇所が見つかりました(図 1 赤で示したアミノ酸)。これらのアミノ酸は、出現初期のプロトタイプ GID1 が改良される過程で置き換えられたと考えられたので、これらのアミノ酸がジベレリン結合にどのような影響を与えたかを分子間の結合を調べる機械(表面プラズモン共鳴法<sup>注 3)</sup>)使って定量的に測定しました。その結果、小型(小葉)シダ植物被子植物に進化する過程で、GID1 受容体は次のような進化をしていることがわかりました。

- 1) GA<sub>4</sub> との結合が強くなり、GA<sub>4</sub> によりフィットするような形になることで、GA<sub>34</sub> のようなジベレリンを許容できなくなった。このことにより、不必要なジベレリンを積極的に不活化する機構の確立を可能にした。
- 2) GA<sub>4</sub> との結合が強くなったことで、GA<sub>1</sub> との結合を可能にし、その後、GA<sub>1</sub> を活性型ジベレリンとして利用することが可能となった。GA<sub>1</sub> は、細胞間で動きにくい性質を持つことから局所的なジベレリンの利用に有利と考えられた。

## 双子葉植物における GID1 機能の多様化と環境適応

さらに我々は、シダ植物、裸子植物、被子植物に属する 66 種の植物が持つ GID1 タンパク質、計 169 個のアミノ酸配列を収集し、解析を行いました。その結果、裸子や単子葉植物は 1 種類の GID1 しか持たないのに対し、ほとんどの双子葉植物は 2 種類(A、B 型)の GID1 を持つことを見つけました。さらに、双子葉植物が 2 種類の GID1 を持つメリットを検討した結果、A 型はもっぱら地上部(茎や葉)で、B 型は地下部(根)で働くよう機能分化(役割分担)が起こっていること、そして、B 型の中にはさらに GID1 と結合しやすくなったものがある(進化型 GID1)ことを見つけました。植物は、このように GID1 を多様化させることで、冬などの悪環境では、地上部の成長を抑制しつつ地下では根の成長を続けるといった環境適応性を身につけたと考えられました。実際、ジベレリンが少ない環境や低温環境下で、B 型 GID1 (進化型)を失った植物は、A 型を失った植物よりも根の伸長が抑えられることが確認されました(図 2)。

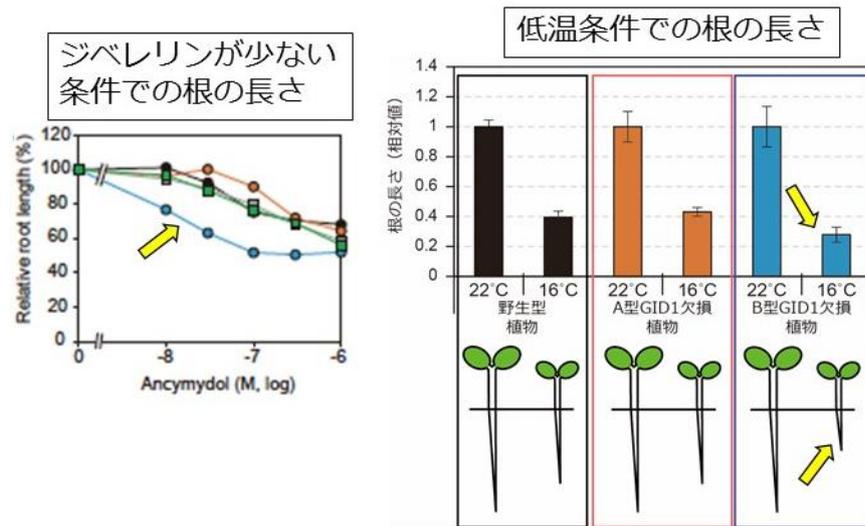


図 2 GID1 の多様化によって双子葉植物は自身の大きさを柔軟に調節できるようになった

B 型 GID1 (進化型) を欠損した植物 (シロイヌナズナ) は野生型や A 型 GID1 を欠損した植物に比べて、ジベレリンが少ない条件や、低温時に根が短くなる。つまり、B 型を持ち、悪条件でも根をある程度伸ばせることが生存に有利だったと考えられる。

### 【成果の意義】

ジベレリンは、植物の成長の調節、生殖の制御、発芽のオンオフなど、農業上非常に重要な生命現象を制御する植物ホルモンです。このジベレリンの受容体 GID1 について解析を行い、30 万種以上存在すると言われている維管束植物 (シダ植物以降の植物) が進化してきた過程において、GID1 がどのように誕生し、そして改良されてきたかを明らかにしました (図 3)。

双子葉植物には 2 種類の GID1 が存在し、その多様化が起こったことで、21 万種以上いと言われる双子葉植物の繁栄に貢献したと考えられます。

また、今回の発見は、ダイズやレタスといった双子葉作物の成長と生殖などを自在に制御するための技術開発の基礎となる重要な知見を提供する。

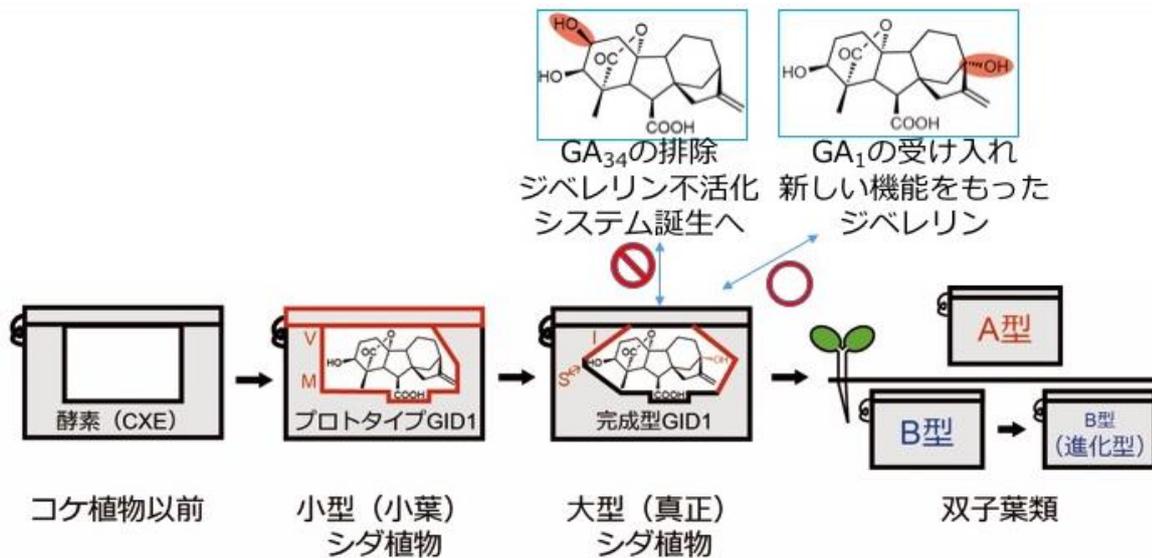


図3 ジベレリン受容体 GID1 の進化の模式図

GID1 は酵素(カルボキシエステラーゼ、CXE)から進化し(プロトタイプ GID1)、ジベレリンとの結合を改良した後(完成型 GID1)、多様化させるように進化してきた(A 型、B 型、および進化型)。色付きの部分が進化に伴う主な変更点。

#### 【用語説明】

注1)ジベレリン: 植物の背丈の調節、雄性生殖器官の発達、発芽など多くの生理現象にかかわる植物ホルモン。ジベレリンは、1926年に黒澤英一によりイネの馬鹿苗病菌から発見され、1935年薮田貞治郎により単離、命名された。現在では130種類あまりの類縁体を含む総称となっている。なお、植物には、ジベレリンの他に、オーキシン、エチレン、サイトカニン、アブシジン酸、ブラシノステロイドなどの植物ホルモンが知られている。

注2)様々な植物: 植物はコケ植物、小型(小葉)シダ植物、大型(真正)シダ植物、裸子植物、被子植物に分けられ、この順に進化してきたと考えられている。被子植物はさらに単子葉類、双子葉類に分けられる。

注3)表面プラズモン共鳴法: 受容体とリガンドなどの分子の相互作用を測定する方法で、結合速度定数、解離速度定数を算出することができる。

#### 【論文名】

雑誌名: 「米国科学アカデミー紀要(Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America)」

論文タイトル: Evolution and diversification of the plant gibberellin receptor GID1

著者: 吉田英樹<sup>1,2</sup>、谷本英一<sup>3</sup>、平井貴章<sup>1</sup>、宮ノ入洋平<sup>4,5</sup>、三谷理恵<sup>1</sup>、川村真結子<sup>1</sup>、武田光広<sup>4,6</sup>、竹原清日<sup>1</sup>、平野恒<sup>1</sup>、甲斐荘正恒<sup>4,7</sup>、赤木剛士<sup>8</sup>、松岡信<sup>1</sup>、上口(田中)美弥子<sup>1</sup>

名古屋大学・生物機能開発利用研究センター、2. 横浜市立大学・木原生物学研究所、3. 名古屋市立大学大学院・システム自然科学研究科、4. 名古屋大学大学院・構造生物学研究センター、5. 大阪大学・蛋白質研究所、6. 熊本大学大学院・生命科学研究所構造生命イメージング分野、7. 首都大学東京・理工学研究科、8. 京都大学大学院・農学研究科

※本研究は、日本学術振興会科学研究費助成事業 新学術領域研究「新種誕生原理」(16H06464、16H06468)、基盤研究(B)(16H04907)、特別研究員奨励費(17J09723)の支援のもと行われました。