

イネの初期成長を促進する因子を発見 —グルコースと植物ホルモン「ジベレリン」を運ぶ SWEET3a のイネ初期成育における機能を解明—

国立大学法人東海国立大学機構 名古屋大学大学院生命農学研究科の森井 南美 大学院生、杉原 諒彦 大学院生、生物機能開発利用研究センターの上口(田中) 美弥子 教授らの研究グループは、理化学研究所環境資源科学研究センターの瀬尾 光範 ユニッ トリーダーらとの共同研究で、糖輸送体である SWEET タンパク質のイネ SWEET3a がグル コースとともに植物ホルモンの 1 つであるジベレリン(GA)を輸送し、イネの初期成長を促進 することを初めて明らかにしました。

イネの初期生育の促進は、田んぼに直接種子を播くことで省力化をはかる「直播」という 水稲生産技術において重要な課題の 1 つです。本研究は、直播栽培に適した育種への重 要な鍵となることが期待されます。

本研究成果は、2020 年 10 月 26 日、国際誌『Plant and Cell Physiology (PCP)』にオンラ イン掲載されました。また、PCP ウェブサイトの「リサーチハイライト」で紹介されました。

本研究は、日本学術振興会科学研究費助成事業 基盤研究(B)の支援のもとで行われ たものです。

【ポイント】

- ・ 糖の輸送体として報告された SWEET ファミリータンパク質の 1 つである、イネの SWEET3a が、グルコースとともに植物ホルモン(ジベレリン)を輸送することを発見した。
- ・ イネ SWEET3a はイネ幼苗のメソコチル(注 1)師部で特異的に発現し、グルコースとジベレリンを茎頂へ輸送して、初期成長を促進することを示した。
- ・ SWEET タンパク質のジベレリン輸送活性は、シロイヌナズナではスクロース輸送体の一部が、イネではグルコース輸送体の一部が持っていたことから、それぞれの植物種の進化の中で独立に出現していることを見出した。

【研究背景と内容】

ジベレリンは種子発芽や茎伸長、花芽形成・花粉の成熟など様々な植物の成長に働く植物ホルモンです。ジベレリンの輸送は、合成や情報伝達と同様にこれらの働きに重要ですが、どのように輸送されているかはほとんど分かっていませんでした。

2016 年、瀬尾らの研究グループによってシロイヌナズナのスクロース輸送体である SWEET13、SWEET14 というタンパク質がジベレリンを細胞内に取り込む輸送体であると初めて報告され、他の植物種でも SWEET タンパク質が糖とともにジベレリンを運ぶ可能性が示唆されました(Kanno *et al.* 2016, *Nat. Commun.*)。

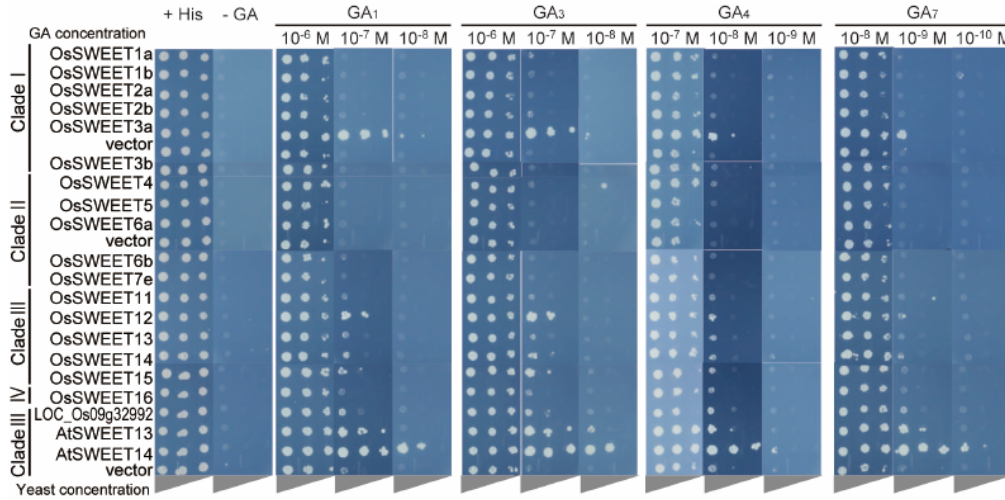
そこで本研究チームは、酵母 three-hybrid 法(注 2)や LC-MS/MS 法(注 3)により、16 個のイネ SWEET タンパク質がジベレリンを輸送するかを調べました(図 1、図 2)。その結果、グルコース輸送体の SWEET3a がジベレリン、特にイネの茎葉で使われている GA₁ の前駆体である GA₂₀ を運ぶ輸送体であることを発見しました。

さらに、SWEET3a のイネ体内での機能を調べました。まず SWEET3a の遺伝子発現を調べ、イネの幼苗では基部のメソコチルの維管束に特異的に発現することを明らかにしました(図 3A,B)。SWEET3a のノックアウト変異体イネを作出すると、発芽から幼苗までの初期成長が野生型イネより遅くなりました。この変異体に GA₁ の前駆体である GA₂₀ を地下部から与えると部分的にしか回復しませんでした。植物全体に与えると野生型と同程度まで成長しました(図 4)。また、維管束周辺で糖を貯めるために作られるデンプン粒が SWEET3a ノックアウト変異体の茎頂付近では少なく、グルコース輸送が妨げられていることも示されました。これらのことから、イネ SWEET3a は幼苗の基部で、グルコースとジベレリンを地上部へと輸送し、初期成長を促進することがわかりました。

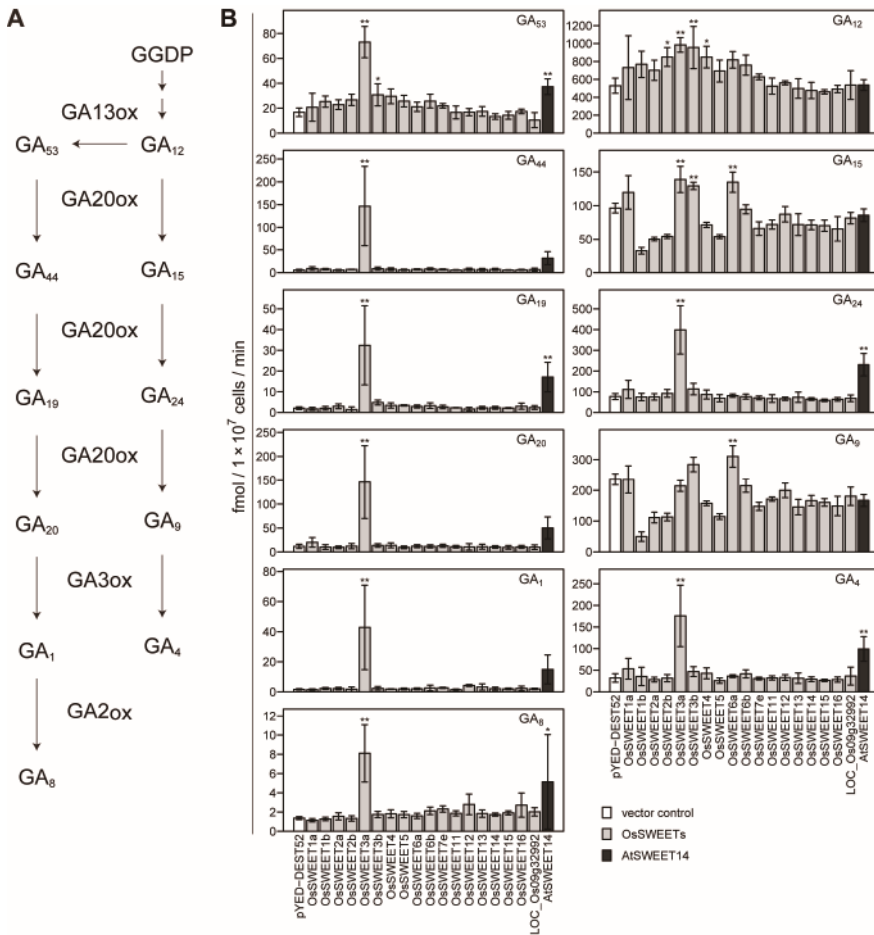
以前、矢野らは、QTL 解析によりイネ初期生育に重要な遺伝子として、イネの GA20ox1 遺伝子を同定しています(Yano *et al.* 2012, *Plant Cell Physiol.*)。GA20ox1 は、ジベレリンの合成経路において最終酵素である GA3ox2 の前段階に働き GA₂₀ を作る酵素です(図 2A)。そこで、生育初期のイネを用いて、イネの GA20ox1、GA3ox2 および SWEET3a の発現を *in situ* ハイブリダイゼーションにより観察しました。その結果、GA20ox1 および SWEET3a は、メソコチルの維管束に共発現している一方で、最終酵素である GA3ox2 は、茎頂付近や若い葉でのみ見られたことから、イネの初期成長においては、GA20ox1 が作った前駆体 GA₂₀ を SWEET3a がグルコースとともに茎頂付近や若い葉に運び、そこで活性型ジベレリンである GA₁ が作られることが正常な生育に重要であることが示唆されました。

他のイネ科植物の SWEET3 タンパク質のジベレリン輸送能についても調べました。イネ SWEET3b、パイナップル SWEET3、ソルガム、トウモロコシの SWEET3a、SWEET3b についても酵母 three-hybrid 法でジベレリンを輸送するか調べると、ソルガムの SWEET3a は GA₄ を輸送しましたが、イネ SWEET3a とは輸送するジベレリンの種類が異なり、その他の SWEET3 タンパク質は

ジベレリンを輸送しませんでした。瀬尾らがジベレリン輸送を発見したシロイヌナズナの SWEET13、SWEET14 はスクロースを輸送するグループの SWEET タンパク質であることも併せて考えると、SWEET タンパク質のジベレリン輸送活性は、それぞれの植物が独立かつ散発的に進化の過程で獲得した能力であると示されました。

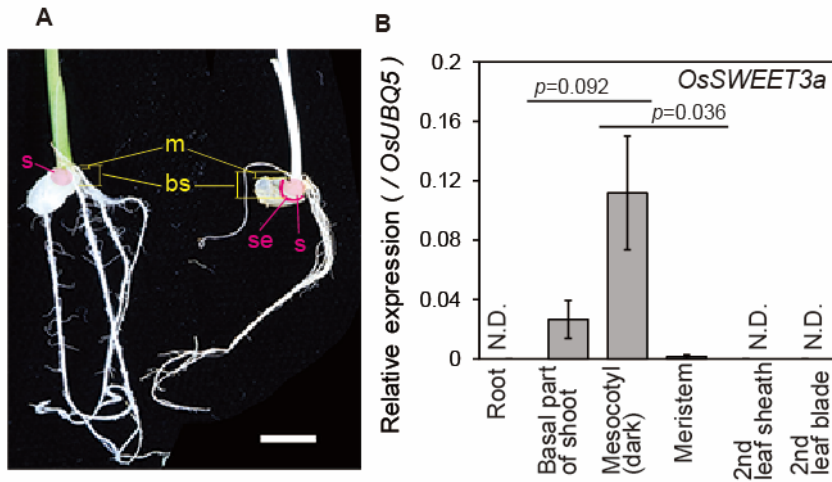


(図 1) 酵母 three-hybrid 法による 16 種のイネ SWEET タンパク質のジベレリン輸送能の測定
培地に GA₁、GA₃、GA₄、GA₇を様々な濃度で添加し、vector をネガティブコントロール、ジベレリン輸送が報告されたシロイヌナズナの AtSWEET13、AtSWEET14 をポジティブコントロールとした。イネの SWEET のうち、OsSWEET3a が最も高いジベレリン輸送活性を示した。



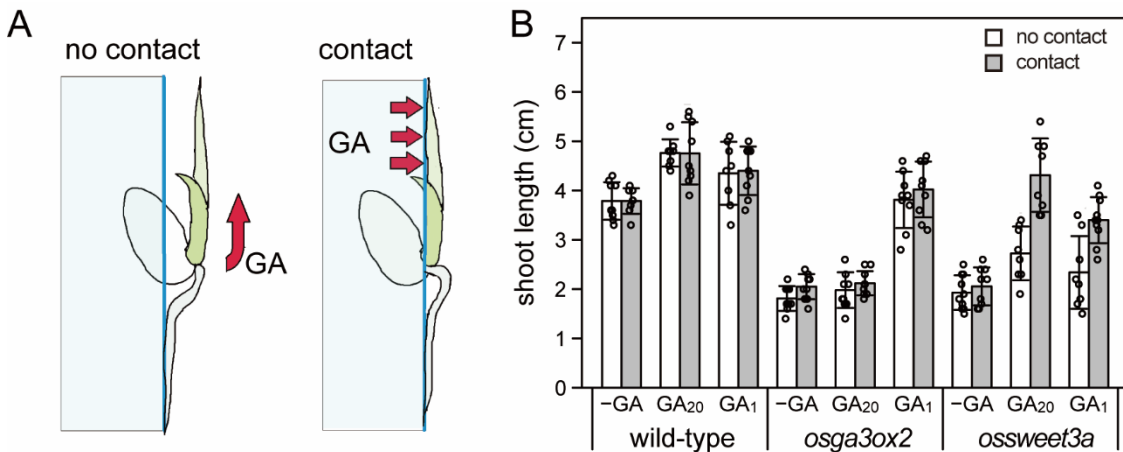
(図 2) 各種イネ SWEET を細胞膜上に発現させた酵母における LC-MS/MS 法によるジベレリンの取込み活性の比較

(A)イネでの GA 合成と代謝の経路。(B) LC-MS/MS 法により(A)に示した各種ジベレリンの取込み活性を比較したところ、OsSWEET3a のみが有意な活性を示し、特に膜透過性が低い 13 位水酸化ジベレリンに対してその効果は大きかった。また、13 位水酸化ジベレリンの中でも、活性型ジベレリンである GA₁ に比べ、その前駆体である GA₂₀ や GA₄₄ に対しより高い輸送活性を示した。



(図 3) イネ SWEET3a の幼苗での発現

(A)のように、発芽後 8 日目のイネの幼苗で、根、冠根以下のシュート基部(bs)、メソコチル(m)、第 2 葉の葉鞘と葉身に分けて SWEET3a の発現を調べた。(B)根と葉では SWEET3a の発現が検出されず、シュート基部とメリステム、特にメソコチルで高く発現していた。



(図 4) SWEET3a ノックアウト変異体(ossweet3a)のイネの初期成長

GA なし、GA₂₀、GA₁ を 10⁻⁶M 添加した培地で野生型と SWEET3a ノックアウト変異体のイネを(A)のように生育すると、no contact では根からのみ、contact では根+地上部全体から培地の GA を取り込む。(B)SWEET3a ノックアウト変異体は no contact で GA を与えても部分的にしか回復せず、contact でより回復した。特に GA₂₀ を contact で与えた時に野生型と同程度まで成長した。以上のことから、ジベレリン生合成前駆体 GA₂₀ が SWEET3a を介して地下部から地上部の茎頂付近に運ばれることがイネの初期成長に重要であることが示された。OsGA3ox2 は GA₂₀ を活性型の GA₁ にする酵素で、OsGA3ox2 ノックアウト変異体(osga3ox2)では、GA₂₀ では回復せず、活性型 GA である GA₁ によってのみ回復する。しかしながら、SWEET3a に異常がないために、no contact と contact の間で生育の違いを示さない。

【成果の意義】

イネの初期生育は、葉の光合成よりは種子デンプンを主な栄養源とすることにおいて他の生育相とは異なります。今回、イネ幼苗基部のメソコチルの維管束で発現する SWEET3a が、ジベレリンの前駆体である GA₂₀ と種子デンプン由来のグルコースを茎頂付近に効率的に運ぶことで、イネの初期成長を巧みに制御していることを明らかにしました。イネの初期生育の促進は、直播において重要な課題の1つとして注目されています。直播は田植えをせず、田んぼに直接種子を播く技術です。水稲生産において、育苗と田植えは大きな労力を必要とする作業ですが、直播はその工程を省略することができるため、稲作の省力化が期待されます。しかしながら、直播栽培は気候条件によって出芽・苗立ちが不安定になりやすいという問題があります。今回、明らかにされた初期生育のメカニズムの解明は、直播栽培に適した育種への重要な鍵になると考えられます。

【用語説明】

(注 1)メソコチル

イネ幼苗の鞘葉のつけねと種子根のつけねの間の部分で、土中に播種された種子が成長点を地表付近まで押し上げるための特別な茎のことをいう。メソコチルは暗条件(土中)でのみ伸長する。

(注 2)酵母 three-hybrid 法

シロイヌナズナのジベレリン受容体 GID1a-BD、DELLA タンパク質 GAI-AD を発現させた酵母は、ジベレリン依存的に GID1a-BD と GAI-AD が結合すると酵母の生育に必要な栄養が合成されて、選択培地での生育が可能になる。このような酵母細胞に third clone として各種イネ SWEET を発現させ、ジベレリン依存的な GID1a と GAI の結合による酵母の生育を指標として、SWEET のジベレリン輸送能を評価した。

(注 3)LC-MS/MS 法

液体クロマトグラフィー(LC)による保持時間と、タンデム質量分析(MS/MS)で得られる前駆体イオンとプロダクトイオンの質量に関する情報から、化合物を同定・定量する手法。

【論文情報】

雑誌名: Plant and Cell Physiology

論文タイトル: The dual function of OsSWEET3a as a gibberellin and glucose transporter is important for young shoot development in rice

著者: Minami Morii, Akihiko Sugihara, Sayaka Takehara, Yuri Kanno, Kyosuke Kawai, Tokunori Hobo, Masako Hattori, Hisako Yoshimura, Mitsunori Seo, Miyako Ueguchi-Tanaka

DOI: 10.1093/pcp/pcaa130

【著者所属】

名古屋大学生物機能開発利用研究センター: 森井南美、杉原諒彦、竹原清日、河合恭甫、保浦徳昇、服部将子、吉村久子、上口(田中)美弥子

理化学研究所環境資源科学研究センター: 菅野裕理、瀬尾光範