

藤森科学技術振興財団 研究実施概要報告書

(西暦) 2025 年 5 月 22 日

公益財団法人藤森科学技術振興財団
理事長 藤森 行彦 殿

藤森科学技術振興財団の助成金による研究が終了しましたので、下記のとおり報告をいたします。

所属機関 名古屋大学

職 名 特任講師

氏 名 下遠野 明恵



【提出書類】

(1) 研究実施概要報告書（本紙）

添付書類（A4 版 3 枚以内）：研究状況を示す写真等の資料

(2) 収支報告書

添付書類：助成金を充当した経費の領収書

領収書を添付しない場合：支払一覧表と支払部門担当者記名捺印

(1) テーマ

※スペースが足りない場合は、枠を追加いただいて構いません。

植物の環境適応戦略を分子レベルで明らかにする

(2) 本研究の期間

(西暦) 2024 年 4 月 ～ 2025 年 3 月

(3) 本研究の目的

動物の情報統御は『脳』という中枢集約型のシステムにより成り立っている。一方で、植物は脳のような中枢機関を持たないが、固着生活を送るという生存戦略のもと、環境の変化に柔軟かつ迅速に適応するために、情報の処理や応答の機能を個々の組織や器官に分散させた『分散統御システム』を進化させてきたと考えられている。しかしながら、その分子実体やメカニズムについては、現在まで不明瞭である。

本研究では、植物における環境応答や個体内情報統御の仕組みの解明を目的として、近年注目されているシグナルペプチドに着目した。トランスクリプトーム解析により、DSP1が有するユニークな生理機能を明らかにすると共に、植物細胞膜上でDSP1を認識する受容体の特定とDSP1モジュール内での相互作用の実態を、植物細胞や組み換えタンパク質の系を用いて解析した。

(4) 本研究の概要

我々は、植物における環境応答や個体内の情報統御の要素として、シグナルペプチドの役割と機能について研究を行ってきた。これらのペプチドは、特定の刺激や環境条件下で合成され、標的細胞上に存在する受容体と結合することで、情報伝達を担っていると考えられる。我々が見出したシグナル分子のうち、Drought Sensitive Peptide 1 (以下、DSP1) は、その名の通り、乾燥ストレスに関連したシグナル分子で、植物が乾燥に曝されると局所的に発現が誘導される特性を持つ。さらに、DSP1 遺伝子を欠損した植物体では、乾燥ストレスに対する耐性が著しく低下し、野生型と比較して高い感受性を示す。

本研究において、我々は、この DSP1 のもつユニークな分子機能について精査するとともに、DSP1 シグナルを植物細胞膜上で認識する受容体複合体 Drought Sensitive Peptide Receptor 1, 3 (以下、DSPR1/DSPR3) を同定し、この機能モジュールに関して統合的な解析を行なった。

トランスクリプトーム解析では、DSP1 遺伝子の発現を誘導した処理群では、処理経過に伴って乾燥ストレスに関わる因子群の発現量が有意に上昇する傾向が認められた。さらに、これら発現上昇が確認された因子の機能的特徴を GO 解析により調べたところ、乾燥ストレス経路のなかでも「応答」に関わる遺伝子群が有意に上昇していた。定量的 RT-PCR 解析により個々の因子に対しての検証を行ったところ、乾燥ストレス応答のマーカー遺伝子は、DSP1 遺伝子の発現誘導処理により顕著に上昇する一方で、DSP1 の機能欠損株 (*dsp1*) での誘導は認められなかった。これらの結果から、DSP1 シグナルが乾燥ストレス応答機構と密接に関係していることが明確となった。

一般的にペプチド分子は細胞膜上で発現する受容体と結合することで、細胞内へとシグナルを伝達する。そこで、DSP1 を認識する受容体のスクリーニングを行い、DSP1 シグナルを認識する受容体複合体 (Drought Sensitive Peptide Receptor 1, 3; DSPR1/DSPR3) を同定することにも成功した。これらの受容体は気孔と呼ばれる特殊化した細胞で強く発現しており、細胞内

で互いに相互作用することも複数の方法で確認することができた。また、DSP1 と DSPR1/DSPR3 受容体結合体との直接的な結合も検出することができた。

(5) 本研究の内容及び成果

1. DSP1 ペプチドシグナルは乾燥ストレス応答経路に関わる因子である

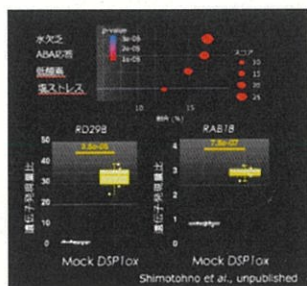


図1.DSP1の誘導により、乾燥ストレス応答因子の発現量が特異的に増大する
(上) DSP1発現誘導型の形質転換体を用いたGene Ontology解析
(下) 乾燥ストレスマーカー遺伝子(RD29BおよびRAB18)の発現量変化をq-PCRにより検証した。

植物のゲノム上には、数百を超えるシグナルペプチド遺伝子がコードされている。我々は遺伝学的解析や生理応答に基づくスクリーニングから、乾燥ストレスに呼応する新規ペプチド DSP1 を見出すことに成功した。この遺伝子欠損株は短時間での乾燥ストレスでも極めて高い脆弱性を示す。短時間での DSP1 遺伝子の発現誘導に伴うトランスクリプトーム解析を実施したところ、DSP1 遺伝子を誘導した処理群では、処理経過に伴って乾燥ストレス関連遺伝子の発現量が特異的に上昇する傾向が認められた(図1)。さらに、これら発現上昇が確認された因子の機能的特徴を明らかにするため、Gene Ontology (GO) 解析を行った。その結果、水欠乏や浸透圧変化など、乾燥ストレス応答と密接に関連する遺伝子群が有意に上昇していることが示された。加えて、DSP1 遺伝子の発現誘導処理により、乾燥ストレス応答のマーカー遺伝子として知られる RD29B および RAB18 の発現が顕著に上昇した。これらの結果から、DSP1 シグナルが乾燥ストレスのなかでも応答機構と密接に関係していることが明確となった。

理により、乾燥ストレス応答のマーカー遺伝子として知られる RD29B および RAB18 の発現が顕著に上昇した。これらの結果から、DSP1 シグナルが乾燥ストレスのなかでも応答機構と密接に関係していることが明確となった。

2. DSP1 のシグナルと結合する DSPR1/DSPR3 受容体複合体の発見

一般的にペプチド分子は細胞膜上で発現する受容体と結合することで、細胞内へとシグナルを伝達する。そこで、DSP1 を認識する受容体の同定を試みた。得られた候補因子群に対して、発現部位や生理応答の有無、さらに感受性を指標にしたスクリーニングを行い、複数の受容体候補を見出した。これらの候補因子に対して、DSP1 との遺伝学的相関性、さらに発現領域などについて詳細な解析をおこない、最終的に2つの受容体を候補因子として絞り込み、DSPR1 および DSPR3 と命名した(図2)。興味深いことに、これら DSPR1 と DSPR3 は植物細胞内で互いに相互作用することが BiFC アッセイや免疫沈降実験などの複数の方法で確かめられた(図3)。

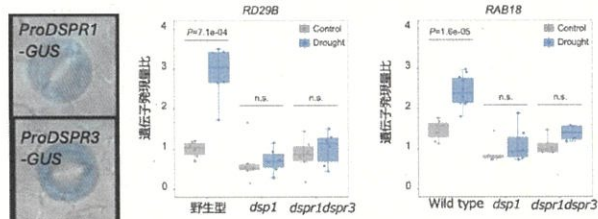


図2. DSP1 と相互作用する受容体複合体 (DSPR1/DSPR3) の単離同定
(左) DSP1受容体であるDSPR1とDSPR3 (共に孔辺細胞に局在)
(右) dsp1およびdsp1/dspr3機能欠損変異体は乾燥ストレスに対する応答性が著しく減少する。

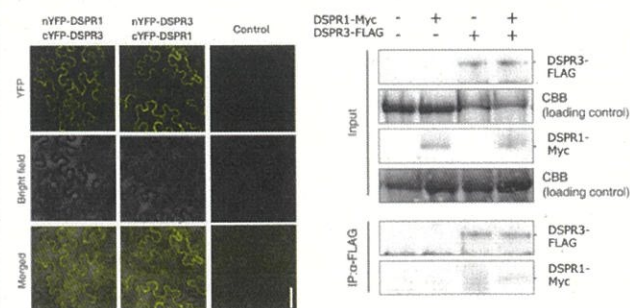


図3.DSPR1とDSPR3は植物体内で複合体を形成する
(左) DSPR1とDSPR3の細胞内結合実験 (BiFCアッセイ)
(右) DSPR1とDSPR3の結合実験 (共免疫沈降実験) により検証した。

に相互作用することが BiFC アッセイや免疫沈降実験などの複数の方法で確かめられた(図3)。従って、DSPR1 と DSPR3 は生体内では複合体として機能していると考えられる。

次に我々は、これらの受容体 (DSPR1 および DSPR3) とリガンド(DSP1) との間の分子間相互作用について TSA を用いた定量的測定を行った。その結果、両受容体がいずれも DSP1 に対して高い結合親和性を示すことを明らかにした(図4)。

これら一連の結果は、DSPR1/DSPR3 受容体複合体がモジュールとして植物体内で機能し、乾燥ストレス応答に関する遺伝子群の発現誘導を介して乾燥ストレス応答の制御に深く関与している可能性を強く支持するものである。

(6) 本研究の考察

本研究では植物が環境変化を認識する仕組みに着目し、環境メディエーターとして機能する新規のペプチド分子およびその受容体複合体に関する分子間相互作用を同定した。この成果により、標的細胞における環境変化の受容機構の一端を明らかにすることができたと考えている。

また、機能変異株を用いた生理応答解析やトランスクリプトーム解析の結果から、DSP1 ペプチドは植物が乾燥ストレスを感受した後の、シグナル伝達や生理応答の制御における機能モジュールとして働いている可能性が強く示唆された。今後は、この機能モジュールの伝達経路をさらに詳細に解析することで、植物におけるストレス応答機構の包括的理解が進み、将来的な環境耐性植物の開発に向けた応用展開が期待される。

本研究の遂行にあたり、研究助成を賜りました公益財団法人藤森科学技術振興財団ならびに関係各位の皆様に、篤く御礼申し上げます。

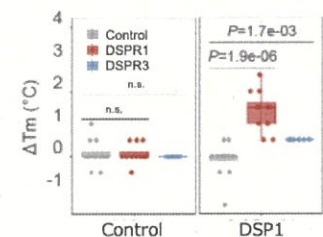


図4. DSPR1/DSPR3受容体とDSP1との結合実験
TSAにより、DSP1の両受容体への結合が認められた。

(7) 共同研究者（所属機関名、役職、氏名）

特になし

(8) 本研究の成果の公表先

[招待講演]

1. **Akie Shimotohno*** "The Role of Peptide-Receptor Modules in Transducing Environmental Stress Signals" *International Plant Growth Substance Association, IPGSA, United States of America* (2025)
2. **Akie Shimotohno*** "Plasticity of Plant Development in Response to the Environment" Invited Lecture in *KAUST, Saudi Arabia* (2024)
3. **Akie Shimotohno*** "Plant Peptide-Receptor Modules: Exploring Role as Signal Transduction in Responding Environmental Stresses", *The 13th International Plant Molecular Biology, IPMB, Australia* (2024)

[学会発表]

1. **Akie Shimotohno*** "環境ストレス応答におけるペプチドの役割を探る" 日本植物生理学会・金沢 (2024)

[注] この報告書を当財団のホームページ等に掲載します。予めご了承ください。