

植物の姿勢を調節する姿勢復元機構の解明に向けて

Toward the elucidation of organ straightening mechanism to adjust plant postures

(日本植物生理学会推薦)

代表研究者 甲南大学 上田 晴子 Konan University Haruko UEDA

Plant posture is influenced by various environmental stimuli such as light and gravity. By sensing the directions of various stimuli, plants bend their organs through differential cell growth. Interestingly, plants also possess an intrinsic ability to straighten their organs, a phenomenon known as autotropism, autostraightening, or organ straightening. Previously, we found that *Arabidopsis* mutants that are defective in two myosin XI members (XIf and XIk) or ACTIN8 exhibit an enhanced bending phenotype in elongating organs in response to various environmental stimuli. To assess the straightening ability of organs, plants are rotated in the dark condition using a clinostat device, which neutralize Earth's unilateral gravitational pull. The inflorescence stem of a wild-type *Arabidopsis* plant straightens its bent shape within a 3-h clinorotation. On the other hand, the stems of the straightening-deficient mutants continue to bend even during clinorotation. Although the actin-myosin XI cytoskeleton is an essential component for organ straightening, the mechanism underlying posture control is largely unknown. In this study, we generated transgenic lines expressing myosin XIk-GFP in the *myosin xif xik* mutant or FIZ1-GFP (a dominant-negative form of ACTIN8) in the wild type in a tissue-specific manner. Our results suggest that the actin-myosin XI system contributes to the straightening mechanism through tissue-specific function.

研究目的

植物は、光、重力、水、あるいは栄養状態など環境からの刺激の方向を認識して成長方向を変化させることで、茎や根をはじめとした器官を屈曲させる(屈性と呼ばれる)。このような屈性運動によって、植物は生存に有利な条件を獲得していると考えられる。特に光屈性や重力屈性の研究は古くから盛んに行われており、刺激の受容メカニズムや偏差成長による屈曲メカニズムが明らかになりつつある。

その一方で、植物の器官はまっすぐに伸びる性質もっており、"automorphogenesis", "autotropism", あるいは "autostraightening" などさまざまな言葉で呼ばれてきた [1, 2]. この性質は植物研究者に限らず当然のこととして認識されており、最初の記述は 1880 年のダーウィンの著書にまで遡るが [3], 学術的な解析はほとんど行われてこなかった. 2013 年に、海外の研究グループによる数理解析から、重力屈性においてまっすぐ伸びる過程が重要な役割をもつこ

とが示唆されたものの [4], この過程に欠陥をもつ植物が見つかっていなかったため、実験的な検証はなされていなかった. そのようななか、われわれは、アクチン-ミオシン細胞骨格に依存したオルガネラの細胞内運動の研究に端を発して、まっすぐになる過程に欠陥をもつ最初の変異体 *myosin xif xik* を単離し、次いで、既知のアクチン変異体 *frizzy1 (fiz1)* も同様の異常をもつことを見出した [5]. これらの変異体は、光や重力の刺激に対して「曲がり過ぎる」という表現型を示すことから、植物のまっすぐに伸びる性質が「姿勢復元力」としてはたらき、器官の過剰な屈曲を防いでいることが明らかになった [5, 6]. このように、姿勢復元は、屈性運動とは切り離せない重要なステップのひとつであることが浮き彫りになった.

さらに、野生型と *myosin xif xik* 変異体の重力に応答した姿勢変化を定量的に比較し、数理力学的な理論解析を行ったところ、*myosin xif xik* 変異体の茎の

過剰な屈曲部位では異常な力が発生することがわかった [7]. すなわち、植物が力学的に安定な姿勢をとるためには、器官の歪みを姿勢復元によって解消する必要があることが示唆された。

姿勢復元力の意義の一端は明らかになったものの、そのしくみについてはほとんど解明が進んでいない。姿勢復元におけるアクチン・ミオシン XI 細胞骨格の具体的な役割も、不明なままである。そこで本研究では、アクチン・ミオシン XI 細胞骨格が必要とされる組織や細胞を明らかにすることで、その役割を探ることを目的とした。

研究経過

シロイヌナズナがもつ 13 種類のみオシン XI のうち *MYOSIN Xif* と *MYOSIN Xik* を同時に欠損した時に、姿勢復元力が顕著に低下する。*MYOSIN Xik* は器官全体に発現すること、さらに、*myosin xif xik* 変異体の *MYOSIN Xif* 発現細胞に *MYOSIN Xik* を発現させることで姿勢復元力が回復することから [5]、姿勢復元において *MYOSIN Xif* 発現細胞が鍵となることが考えられていた。そこで、*MYOSIN Xif* のプロモーター制御下で細胞核マーカーを発現させ、*MYOSIN Xif* が発現する組織を解析した。次に、これらのうちのどの細胞が姿勢復元に関与するかを探るため、細胞核マーカーのシグナルが検出された組織を中心としてさらに細分化した組織特異的発現を示す遺伝子のプロモーター領域を利用して、*myosin xif xik* 変異体に緑色蛍光タンパク質 (GFP) と *MYOSIN Xik* の融合タンパク質 (Xik-GFP) を発現させた形質転換体シリーズを作成した。その結果、親株である *myosin xif xik* 変異体に特徴的な姿勢異常 (茎や葉柄をはじめとした伸長器官の過剰な屈曲) が回復する系統と、回復しない系統が得られた。

茎の姿勢復元力は、クリノスタット解析によって評価できる [8]。クリノスタット解析とは、45 分間の重力刺激を与えて茎の屈曲を誘導した後、植物体をクリノスタット装置で低速回転させることによって重力方向を攪乱し、これらの操作を暗所で実施することで光刺激と重力刺激を無効化する方法である。例えば、野生型シロイヌナズナの場合、茎が重力に逆らって一旦上向きに屈曲するが、ここで植物体を回転させ始めると、3 時間後には茎が再びまっすぐな姿勢に戻る。一方、*myosin xif xik* のように姿勢復元力が顕著に低下した変異体の茎では、重力方向が攪

乱されているにも関わらず、最初に与えられた重力刺激の方向に応じて屈曲し続けて元の姿勢には戻らない (Fig.1, left)。本研究で作出した形質転換体シリーズについてクリノスタット解析を実施した結果、姿勢が復元された系統 (Fig.1, right)、屈曲したまま動きを停めた系統、あるいは屈曲を続けた系統など、姿勢復元力の程度が異なる系統に分類された。興味深いことに、見かけの姿勢異常とクリノスタット解析による姿勢復元の程度が一致しなかった系統もあった。

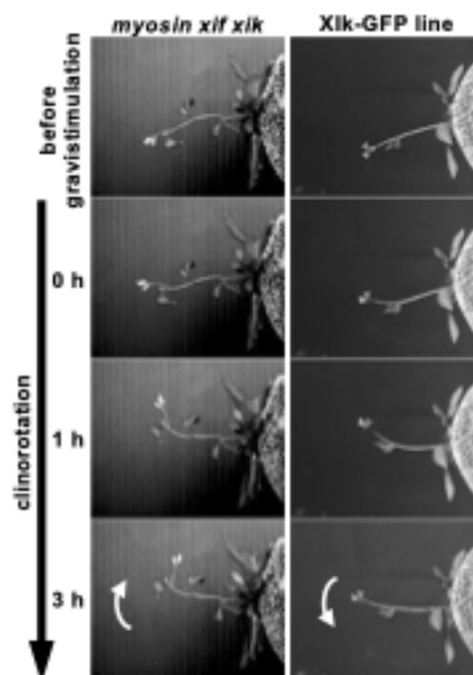


Fig. 1 Clinostat analysis

Representative images of *myosin xif xik* (left) and *myosin xif xik* expressing Xik-GFP (right) during clinorotation.

ミオシン XI の滑り運動に必要なアクチン繊維の異常も、姿勢復元不全を引き起こす。アクチン繊維の断片化が報告されているシロイヌナズナ *fiz1* 変異体では、ACTIN8 の 1 アミノ酸が置換されており、*myosin xif xik* 変異体と類似した姿勢異常をもつ [9]。これまでに、GFP 標識した FIZ1 (ドミナントネガティブ変異型 ACTIN8^{E272K}) タンパク質を発現させると、*fiz1* 変異体様の姿勢異常が誘導されることを確認している。そこで、Xik-GFP の場合と同様の組織特異的プロモーターを使って、野生型背景に FIZ1-GFP を発現させて部位特異的にアクチン繊維の機能を阻害した形質転換体シリーズを作成した。その結果、*fiz1* 変異体様の姿勢異常を示す系統と、見かけ上は野生型と区別のつかない系統に分類された。これらのクリノスタット解析の結果、野生型と比較して姿勢復

元力を低下させる複数の系統が得られた。

考察

姿勢復元においてアクチン・ミオシン XI 細胞骨格が必要とされる組織の絞り込みが、本研究によって進展した。同時に、アクチン・ミオシン XI 発現部位と姿勢復元力との関係をより明確にするための課題として、姿勢復元をより定量的に評価する必要があると考えられた。クリノスタット解析では、野生型と *myosin xif xik* 変異体のように明確に表現型が異なる場合は、目視によって容易に姿勢復元力の有無を比較できる。しかし実際には、茎は三次元的に位置を変化させる複雑な運動を示すことが多く、側面から撮影した二次元画像では、姿勢の定量的な経時変化の解析は困難である。そこで、工学系研究者らとも協働しつつ、植物体を多方向から撮影して立体再構成することで、植物の姿勢変化を追跡する技術の開発にも取り組んでいる。その第一歩として、野生型と *myosin xif xik* 変異体の成長の様子を撮影し、四次元的 (x, y, z, t) に植物の形状を抽出する方法を確立した (Yoshida et al., *Quant. Plant Biol.*, 2025)。今後は、クリノスタット解析や、重力屈性をはじめとした植物器官の運動解析に応用するための条件検討を進めている。

myosin xif xik 変異体では、根も光や重力刺激に対して過剰な屈曲を示すことから、姿勢復元力は地上器官だけでなく地下器官にも影響を与えていると考えられる [5, 10]。最近、根の姿勢を定量的に評価するための指標として、曲率に注目した *curvature index (CI)* が有効であることを報告した [10]。今後は、本研究で作出した形質転換体シリーズについて、根の姿勢も並行して解析することで、植物の姿勢復元力を包括的に理解する必要がある。

myosin xif xik 変異体や *fiz1* 変異体の過剰な屈曲は、重力に対しても、光に対しても、さまざまな器官（花茎、花柄、葉柄、胚軸、根など）で観察される。すなわち、曲がり過ぎを抑制する姿勢復元力は、屈曲を誘導した刺激の種類や、器官の種類とは無関係に発揮されている。このことは、力学的な観点から必要とされる姿勢復元力の役割と矛盾しない。移動できない植物は、自身をとり巻く環境が刻々と変化する中で、多様な刺激に対する「屈曲」と、屈曲に対する「姿勢復元」を繰り返すことによって姿勢を調節していると考えられる。本研究で注目したアクチン・

ミオシン細胞骨格は、植物だけでなく全ての真核細胞がもつハウスキーピング因子である。それにも関わらず、今回の結果は、これらの因子の機能が植物の姿勢復元力において器官の一部の組織で発揮されていることを示唆しており、今後はその詳細な分子機構を明らかにしていく必要がある。

参考文献

1. Stankovic, B., Volkmann, D. and Sack, F. D., Autotropism, automorphogenesis, and gravity. *Physiol. Plant.* (1998) 102, 328–335.
2. Iino, M., Toward understanding the ecological functions of tropisms: interactions among and effects of light on tropisms. *Curr. Opin. Plant Biol.* (2006) 9, 89–93.
3. Darwin, C., *The Power of Movements in Plants* (John Murray, 1880).
4. Bastien, R., Bohr, T., Mouliat, B. and Douady, S., Unifying model of shoot gravitropism reveals proprioception as a central feature of posture control in plants. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* (2013) 110, 755–760.
5. Okamoto, K., Ueda, H., Shimada, T., Tamura, K., Kato, T., Tasaka, M., Morita, M. T., and Hara-Nishimura, I. Regulation of organ straightening and plant posture by an actin–myosin XI cytoskeleton. *Nat. Plants* (2015) 1, 15031.
6. Ueda, H., Tamura, K., and Hara-Nishimura, I., Functions of plant-specific myosin XI: from intracellular motility to plant postures. *Curr. Opin. Plant Biol.* (2015) 28, 30–38.
7. Tsugawa, S., Miyake, Y., Okamoto, K., Toyota, M., Yagi, H., Morita, M. T., Hara-Nishimura, I., Demura, T., and Ueda, H. Shoot gravitropism and organ straightening cooperate to arrive at a mechanically favorable shape in *Arabidopsis*. *Sci. Rep.* (2023) 13, 11165.
8. Ueda, H. and Hara-Nishimura, I., How to Investigate the Role of the Actin-Myosin Cytoskeleton in Organ Straightening. *Methods Mol. Biol.* (2019) 1924, 215–221.
9. Kato, T., Morita, M.T., and Tasaka, M. Defects in dynamics and functions of actin filament in *Arabidopsis* caused by the dominant-negative actin

fiz1-induced fragmentation of actin filament. ***Plant Cell Physiol.*** (2010) 51, 333–338.

10. Yagi, H., Hara-Nishimura, I., and Ueda, H. Quantitative analysis of the root posture of *Arabidopsis thaliana* mutants with wavy roots. ***Quant. Plant Biol.*** (2024) 5, e9.

研究の発表

口頭発表

1. 上田晴子, 津川暁, 重力に応答した植物の屈曲運動における姿勢復元力の力学的な意義 The mechanical significance of organ straightening in the bending movement of plants in response to gravity. 第 48 回日本分子生物学会年会 (2025 年 12 月・横浜), 招待講演
2. 津川暁, 高井晴加, 岡村さところ, 八木宏樹, 三宅

唯月, 豊倉浩一, 西村いくこ, 上田晴子, 植物の器官運動におけるストレートニング機構の役割, 第 66 回日本植物生理学会年会 (2025 年 3 月・金沢)

3. 八木宏樹, 建部拓人, 松村菜々子, 西村いくこ, 上田晴子, ミオシン XI および ABCB19 欠損変異体における根の姿勢の定量比較解析, 日本植物学会第 88 回大会 (2024 年 9 月・宇都宮)

誌上発表

1. Yoshida, D., Kunita, I., Toda, M., Ueda, H., and Higaki, T., Four-dimensional phenotyping reveals MYOSIN XI-dependent establishment of branch morphology through upward- and stably-directed growth in *Arabidopsis*. ***Quant. Plant Biol.*** (2025) 6, e15.