

研究報告書

「生物界最速シャジクモミオシンを利用した植物成長促進システムの開発」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 平成 23 年 10 月～平成 27 年 3 月

研究者: 富永 基樹

1. 研究のねらい

植物では、“原形質流動”とよばれる活発な細胞内輸送がみられる。この運動はモータータンパク質ミオシンが、オルガネラや小胞に結合し ATP 加水分解のエネルギーを使ってアクチン骨格上を運動することによって発生している。

動物の細胞内輸送速度が $\sim 1 \mu\text{m}/\text{sec}$ 程度であるのに対し、高等植物の原形質流動は $\sim 10 \mu\text{m}/\text{sec}$ を発生する。特に、淡水産藻類であるシャジクモ(*Chara corallina*)の細胞(細胞ひとつが 10cm 以上に成長する)では、 $70 \mu\text{m}/\text{sec}$ (動物の 100 倍、高等植物の 10 倍)に達する原形質流動が行われている。流動速度はミオシンの運動速度を反映しており、シャジクモミオシンは生物界最速のモータータンパク質として知られている。

植物個体に視点を移した場合、光合成や窒素固定・硝酸還元の場合(ソース)から生長・貯蔵の場合(シンク)への物質移動、あるいは、植物ホルモンや細胞壁前駆体、二酸化炭素といった成長関連物質の輸送に原形質流動の速度が大きく寄与している可能性が考えられる。例えば、植物は、葉、茎、根、子実(果実)などの性格を異にする多数の器官から成り立っているが、葉の光合成によって生成された光合成産物は、そのほとんどが葉に貯蔵されるのではなく、莢さや、子実などへ移動し貯蔵される。光合成産物のみならず、植物成長に関連する物質は、原形質連絡を介して幾層もの細胞間を移動するシンプラスト経路を必ず通過しなければならない。しかしながら、単純拡散のみでは非常に時間がかかる。原形質流動は、シンプラスト経路における能動的輸送を促進するポンプとして機能している可能性が考えられる。従って、ポンプの駆動力であるミオシンの運動速度を人工的に速くすれば、植物の成長を促進できる可能性がある。

本研究のねらいは原形質流動の駆動力であるミオシン XI の速度を人工的にコントロールし、植物の成長制御システムの確立を目指すことにある。本システムは、植物普遍的な原形質流動の駆動力として保存されているミオシンを改変する手法である。従って、樹木を含めたあらゆる有用植物への転用が容易な汎用性の高いシステムであり、将来的には様々な植物に本システムを転用することで、二酸化炭素の削減、食物の増産、バイオマスエネルギー生産の効率化等への展開が大きく期待できる。

2. 研究成果

(1) 概要

シロイヌナズナにおいて、原形質流動の主な駆動力として知られるミオシン XI-2 と XI-K に、速度の異なる他種ミオシンのモータードメインを融合することで、速度改変型キメラミオシン XI を開発した(図 1)。生物界最速シャジクモミオシン XI のモーターを融合した高速型ミオシン

XI-2 の発現は、細胞サイズの増大に伴い植物を大型化することが明らかとなった。対して、ヒトミオシン V のモーターを融合した低速型ミオシン XI-2 の発現は、細胞サイズの減少に伴い植物の小型化を引き起こした。植物サイズとミオシン速度のリニアな相関から、原形質流動速度が植物サイズを規定している支配因子の一つであることが明らかとなった(図 2, Tominaga et al., Developmental Cell, 2013)。

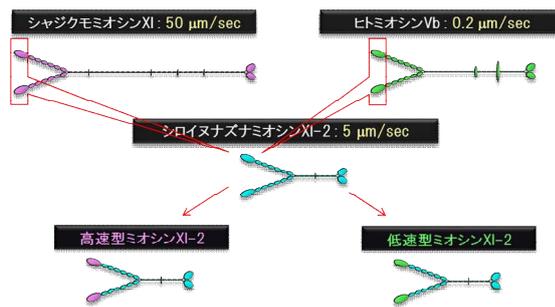


図1. 速度改変型ミオシンXIの開発

更に、高速型ミオシン XI-K の発現も植物の大型化を引き起こしたが、大型化は高速型 XI-2 とは異なる発達段階、組織で現れることが明らかとなった(図 3)。



図2. 速度改変型ミオシンXI-2による植物サイズの変化

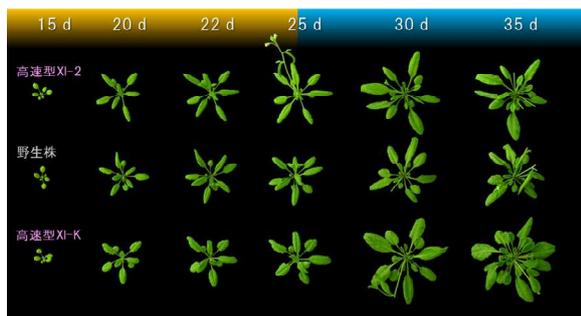


図3. 高速型ミオシンXI-2とXI-Kで植物大型化に対する効果が異なる

高等植物は、駆動力のミオシン XI を時間空間的に使い分けることで、原形質流動を介して自らの成長を制御している事が示唆された。

原形質流動は、藻類から高等植物まで見られる植物普遍的な細胞内輸送システムである。加えて、ミオシンの運動機能領域は高度に保存されていることから、高速化・低速化は様々な有用植物のミオシンに適用することが可能である。例えば、茎で低速型ミオシン XI、葉で高速型ミオシン XI を発現させることにより、背丈が低く風や雨に対する倒状に強いが、収穫量の多い作物を人工的にデザインすることも可能になり得る。さらに、既存の植物増産技術と本高速化技術を併用することで、相乗効果によるバイオマスの更なる増産が期待できる。将来的にこの技術をバイオマスエネルギーや食糧に関連した資源植物に適用することで、効果的かつ普遍的な植物増産システムとしての展開が期待できる。

(2) 詳細

研究テーマ 1「植物大型化の強化」

(1A) 原形質流動に関与する複数のミオシンの同時高速化による、植物の大型化強化。

- ミオシン XI-K の高速化による植物の大型化を見出した。
- 高速型 XI-K による大型化は、高速型 XI-2 とは異なったタイミングと場所で現れることが明らかとなった。
- 現在、高速型 XI-2 と高速型 XI-K の同時発現株を作製中。

(1B) ミオシン発現量の増幅による、植物の大型化強化。

- 過剰発現プロモーターによる高速型ミオシン XI の発現は、植物にとって致死的な影響が出た。

- 適切な発現量、あるいは発現場所のコントロールが不可欠であることが明らかとなった。

研究テーマ 2「植物組織特異的サイズ制御システムの確立」

(2A) 低速型キメラミオシンによる、植物小型化。

- 低速型 XI-2 の発現により、植物が小型化することが明らかとなった。
- 低速型 XI-K の発現は、植物の小型化を引き起こさなかった。
- ミオシン XI-2 と XI-K が、植物の発達段階の異なったタイミングで機能していることが示唆された。
- 植物が、原形質流動の駆動力であるミオシン XI-2 と XI-K を時間・空間的に使い分けることにより、自身のサイズを制御している可能性が示された。

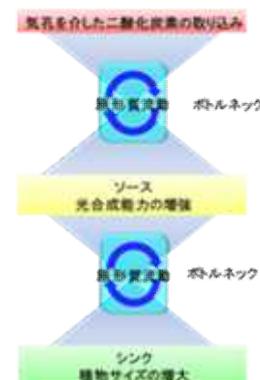
(2B) 高速型・低速型ミオシンの組織特異的発現による植物サイズ制御システムの確立。

- 過剰発現型プロモーターによる高速型ミオシン XI の発現が致命的に作用したことから、速度改変型ミオシンの組織特異的発現には検討が必要であることが明らかとなった。

3. 今後の展開

原形質流動の高速化技術を様々なバイオマス資源植物で適用することができれば、固体当たりの植物バイオマスを増産することが可能になると考えられる。これにより、単位面積・時間当たりの二酸化炭素吸収量が増大できると共に、得られたバイオマスからカーボンニュートラルなエネルギーの増産が達成できる。

またシンク(生長・貯蔵の場)への物質輸送を活性化させる本技術は、ソース(代謝や光合成の場)を増強した数ある既存の植物増産技術と併用することで、その効果を飛躍的に増強することが期待できる。逆に、ソースのみの活性化では、“原形質流動がボトルネック”となり植物全体に対する効果が限定的になっている可能性が考えられる。今後、原形質流動高速化をバイオマス増産の基盤技術として確立し、将来的には他の増産技術との併用により樹木や藻類を含めたあらゆるバイオマス資源植物の増産を目指す。



A. 分子レベル(ミオシン XI の更なる高速化)

“現・高速型シャジクモ-シロイヌナズナキメラミオシン XI-2”の運動速度は、約 $16\mu\text{m}/\text{sec}$ である。野生型シロイヌナズナミオシン XI-2 の運動速度は、約 $7\mu\text{m}/\text{sec}$ であることから、約 2 倍の高速化が実現している。しかし、シャジクモミオシン XI 本来の速度(約 $70\mu\text{m}/\text{sec}$)を考えると、少なくとも約 10 倍の高速化が期待できる。そこでアミノ酸レベルでの分子設計を見直すことで、更なる高速性能を備えた“新・高速型ミオシン XI”の開発を目指す。

B. シロイヌナズナ(基本原理の解明)

原形質流動が何を輸送することによって植物の大きさを規定しているのかについては、いま

だ明らかになっていない。今後、様々な植物で実用化を試行する場合、基本メカニズムの理解は、トラブルシューティングなどにおいて不可欠となる。そのため、ライフサイクルが短く、分子生物学的アプローチが容易なモデル植物シロイヌナズナを用いて基本メカニズムの解明を行う。

また、高等植物は、それぞれ十種類以上のミオシン XI 遺伝子を持つ。シロイヌナズナにも13種類のみオシン XI 遺伝子が存在することから、現在高速化を施しているミオシン XI-2 以外の高速化がバイオマス増産に重要な植物の大型化(種子や地下部など)を促す可能性が考えられる。他種類のミオシン XI の高速化を試み、バイオマス増産に資するミオシン XI の同定を試みる。

C. 他の植物(バイオマス資源植物の大型化)

草本のみならず樹木や藻類など様々なバイオマス資源植物で原形質流動の高速化を実施し、二酸化炭素固定量の増大による温室効果ガスの削減およびバイオマス増産を達成する。

4. 評価

(1) 自己評価

(研究者)

研究目標の達成状況

- ・原形質流動の高速化による植物の大型化、低速化による植物の小型化を立証できたことで、原形質流動が植物サイズを規定する制御因子であることを明らかにできた。
- ・また、ミオシン XI-K の速度変化から、原形質流動が単なる植物内の攪拌だけでなく、時間・空間的制御によって、植物のサイズを制御している可能性を示唆できた。
- ・200 年前の発見以来大きな謎であった原形質流動の機能を解明した基礎面、バイオマス増産の基盤技術としての応用面でインパクトのある成果を出せたと思っている。
- ・速度変化型ミオシンの過剰発現や、組織特異的発現により、サイズコントロールを試みた。しかしながら、ミオシンの発現量や部位に依存して植物に致死的影响があることが明らかとなった。この結果は、植物における原形質流動の機能を解明するうえで非常に重要なヒントになり得ることから今後の課題としていきたい。

研究の進め方

- ・研究補助員
 - 多くの形質転換植物を作製することができた。
 - 結果、バイオマス増産に資するミオシンメンバーを複数同定することができた。
- ・湿度コントロール付き人工気象器
 - 当初はオーバースペックかと思ったが、湿度に対する感受性の違いから、二酸化炭素原因説を提唱することができた。
- ・高速型共焦点顕微鏡
 - 原形質流動の速い動きをリアルタイムで捉えることが可能となった。
 - 細胞内での輸送速度の変化を捉えることができたため、論文アクセプトの際の大きな判断材料となったと思われる。

研究成果の科学技術及び社会・経済への波及効果(今後の見込みを含む)

- ・さきがけ研究による成果をプレス発表することで、ニュース、全国紙をはじめ様々なメディアに取り上げていただくことができた。
- ・また、以前の分子レベルでの研究も含め、原形質流動の機能を分子から個体レベルまで明らかにした点が国際的に高く評価され、国際シロイヌナズナ会議(ICAR)に招待され基調講演を行うことができた。
- ・さきがけでの研究成果をベースとし、社会実装を目指した研究開発提案を JST-ALCA に採択いただくことができた。今後、イネを初め藻類、樹木など様々な資源植物への展開を進める予定である。

シャジクモミオシン XI を利用した原形質流動の高速化は、あらゆる植物のバイオマス増産を可能とする高い汎用性・独自性を備えた革新的システムとなり得ると考えている。しかしながら、本格的な社会実装に向けて今後解決していかななくてはならない課題は多い。

- ・原形質流動の速度変化により植物のサイズを規定している本当の原因物質はなにか？
現在、二酸化炭素や光合成産物を候補として考えているが、それを立証するための研究が不可欠である。
- ・シロイヌナズナのみならず、あらゆる植物で原形質流動高速化の効果は得られるのか？
現在、資源植物の一例としてイネでの効果を検証中である。今後は、樹木や藻類など様々な有用植物で効果を検討していかななくてはならない。

(2) 研究総括評価(本研究課題について、研究期間中に実施された、年2回の領域会議での評価フィードバックを踏まえつつ、以下の通り、事後評価を行った)

(研究総括)

藻類が持つ特別な能力を他の生物に付与し、バイオマスの増産を図るというユニークな発想で、基礎・応用面からインパクトのある成果を出せた。今後、淡水産藻類シャジクモミオシンを使った植物成長促進システムは、バイオマス増産の基盤技術として藻類を含む様々な資源植物への展開が大いに期待できる。

また、本さきがけ研究の成果が国内外で研究領域におけるトップランナーの1人として認知され、研究者としての飛躍につながった。今後は、早稲田大学に PI として、また、JST-先端的低炭素化技術開発(ALCA)を通じて、更なる研究の進展に期待する。

5. 主な研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表

1. Motoki Tominaga, Atsushi Kimura, Etsuo Yokota, Takeshi Haraguchi, Teruo Shimmen, Keiichi Yamamoto, Akihiko Nakano, and Kohji Ito. Cytoplasmic Streaming Velocity as a Plant Size Determinant. Dev. Cell. 2013, 27, 345-352, Selected for F1000prime
2. Ralph P. Diensthuber, Motoki Tominaga, Matthias Preller, Falk K. Hartmann, Hidefumi Orii,

Igor Chizhov, Kazuhiro Oiwa, and Georgios Tsiavaliaris. Kinetic mechanism of Nicotiana tabacum myosin-11 defines a new type of a processive motor. JFASEB J. 2013, 29, 81-94

(2)特許出願

研究期間累積件数:1 件

発 明 者: 富永 基樹

発明の名称: 成長増強植物及びその作出方法

出 願 人: 独立行政法人 理化学研究所

出 願 日: 2012/1/5

出 願 番 号: 13/344574

(3)その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

主要な学会発表

招待講演(海外)

1. Motoki Tominaga

Molecular mechanism and physiological function of cytoplasmic streaming.

25th International Conference on Arabidopsis Research,

University of British Columbia, Vancouver, Canada, 2014, August, 1

招待講演(国内)

1. 富永基樹

植物ミオシン:高次機能を担う分子メカニズム

神谷宣郎先生 生誕百周年記念シンポジウム

大阪大学@豊中市・大阪 2013年7月13日

2. 富永基樹

原形質流動速度の人工的改変による植物のサイズ制御

シンポジウム「細胞を創る操る」

奈良先端科学技術大学院大学 ミレニアムホール@奈良市・奈良 2013年11月28日

3. 富永基樹

原形質流動による成長制御から考える植物の光戦略

公開シンポジウム「多様な光合成の世界」

近畿大学 農学部 奈良キャンパス@奈良市・奈良 2014年5月30日

4. 富永基樹

動かない植物の細胞内運動の謎

学習院大学生命科学シンポジウム「生命の秘密を解く鍵をもとめて」

学習院大学@目白・東京 2014年5月31日



著作物

総説

Motoki Tominaga and Akihiko Nakano. Plant-specific myosin XI, a molecular perspective.
Front. Plant Sci. 3 : 211, DOI: 10.3389/fpls.2012.00211

解説

1. ライフサイエンス新着論文レビュー (First Author's)

原形質流動は植物の大きさの決定因子である

富永基樹, 伊藤光二, 2013

2. 生物物理.

富永基樹, 伊藤光二

ミオシン速度は植物サイズを決定する. 2014, 54 : 259-261

プレスリリース(文部科学省@東京 2013年11月8日)

プレス発表

JST・理研・千葉大 (<http://www.jst.go.jp/pr/announce/20131112/index.html>)

植物の大きさを制御する新たな手法を発見

～植物の原形質流動の本質的な役割を解明～

全国ニュース

NHK「あさイチ」11月27日(水), AM9:02～

遺伝子操作で植物の大きさ自在に

全国紙

・産経新聞, 11月12日朝刊, 社会面

遺伝子操作で細胞質制御

植物のサイズ制御に成功

・朝日新聞, 12月19日朝刊, 科学面

葉の成長のカギ解明

理研など 細胞内の流れに違い

・日経新聞, 11月12日朝刊, 科学技術面

植物の細胞を制御, 葉の面積に変化

・日刊工業新聞, 11月12日朝刊, 科学面

遺伝子操作で物質輸送現象制御

植物サイズ人工改変