

2015年6月16日

## 2つの相反するペプチドホルモンの競合による気孔の数と分布の制御

～ 植物ペプチドホルモンの新しい作用機構の発見 ～

米国ハーワードヒューズ医学研究所、ワシントン大学、および名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所 (ITbM) の鳥居啓子教授の研究チームは、発生遺伝学とペプチド生化学の手法を用いて、植物の気孔の数と分布の制御には、2つの相反するペプチドが競合的に受容体を奪い合うことにより調節されていることを明らかにしました。この成果は、植物ペプチドホルモンの新奇な作用メカニズムを実証するものです。将来的にITbMの合成化学技術と融合させることにより、植物の生長や乾燥耐性を自在に調節することが可能になると期待されます。

本研究成果は、英国科学誌「ネイチャー」のアーティクルとして6月18日午前2時（日本時間）に公開されます。

### 2つの相反するペプチドホルモンの競合による気孔の数と分布の制御



イラスト ©ウチダヒロコ 2015

- ストマジエン (EPF-LIKE9) と EPF2 は構造のよく似た、いわば姉妹ペプチドである
- ストマジエンは気孔を増やすが、EPF2は気孔を減らす、という全く正反対の性質をもつ
- EPF2とストマジエンは、同一の受容体 (ERECTA) に競合的に結合し、シグナル伝達系をONまたはOFFにすることが解った
- 気孔の数の分布は、2つの相反するペプチドホルモンによって調節されている



#### 【研究の背景と内容】

植物の表皮に無数に点在する通気口、気孔は直径数十ミクロンの構造に過ぎませんが、植物の生長と生存に必要不可欠です。大気中の二酸化炭素は気孔を介して陸上植物の体内で光合成によりバイオマスとなり、また、大気中の全水蒸気は全植物の気孔を介して年に二回も循環されると算出されているなど、気孔の存在は、地球の大気環境に大きなインパクトを与えています。

シロイヌナズナなど双子葉植物では、気孔の形成には、一連の分泌性ペプチドホルモンが重要な役割を持つ事が知られています。中でも、EPIDERMAL PATTERNING FACTOR2 (EPF2)は、受容体キナーゼ ERECTA およびパートナー受容体である TOO MANY MOUTHS (TMM)に結合することにより、未分化な原表皮細胞が気孔系譜にならないように抑制しています。そのため、活性 EPF2 ペプチドを植物芽生えに投与すると、表皮からは気孔がなくなります(気孔のない植物は致死となります)。一方で、EPF2 と似たペプチドであるストマジエン (Stomagen, EPF-LIKE9 と呼ばれる)は、気孔をつくるペプチドホルモンで、植物芽生えにストマジエンを過剰に投与すると気孔が過剰にでき、また気孔同士が塊をつくる事が知られていました。しかしながら、ストマジエンがどのようにして気孔の分化を促進するのか、その作用メカニズムについては解っていませんでした。

研究グループは、まず、ストマジエンと ERECTA ファミリーとの遺伝学的な相互作用を調べました。ERECTA ファミリーは3つの姉妹受容体からなり、全ての受容体の機能が破壊されると気孔が過剰に分化します。遺伝学的解析の結果、気孔を増やすストマジエンの作用は、ERECTA ファミリー受容体を介して起こることが明らかになりました(図1)。ERECTA ファミリーの受容体パートナーである TMM は、ストマジエンの効果に必要である事が、以前の他グループの研究により明らかになっています。次に、ストマジエンが TMM と ERECTA のどちらに作用するのか、TMM と ERECTA が気孔の分化に逆に働く器官である胚軸を用いて調べました。その結果、TMM があってもなくても、ERECTA ファミリーに依存してストマジエンの効果が出る事が解りました。ストマジエン遺伝子を抑制すると気孔の数が減りますが、このような効果は、ERECTA を介したシグナル伝達をブロックすると打ち消されてしまいます。

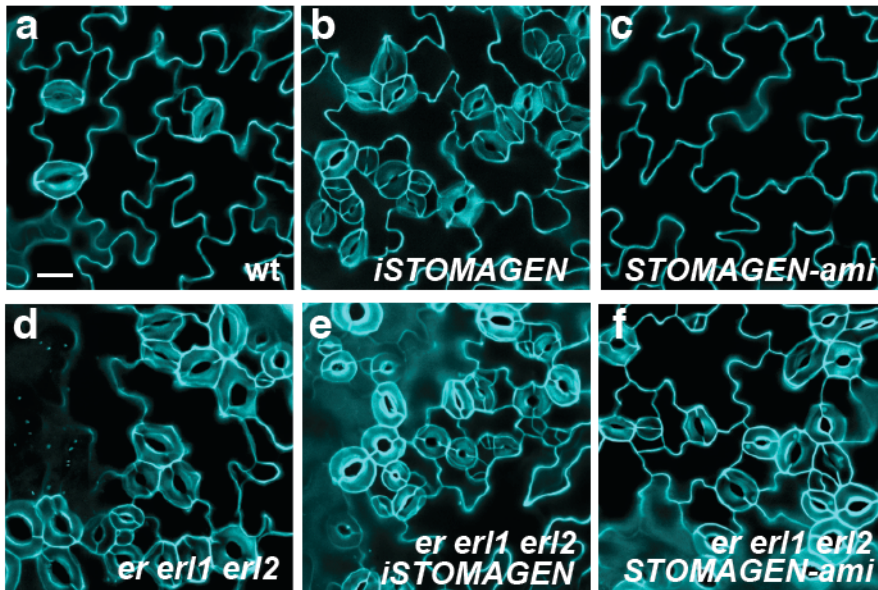


図 1. ストマジエンの過剰発現および抑制の効果は ERECTA ファミリー受容体の存在に依存する

野生型 (a) に対して、ストマジエン遺伝子過剰発現(b)では気孔が過剰に分化し塊をつくり、ストマジエン遺伝子抑制(c)した芽生えでは気孔の数が減ります。一方、ERECTA ファミリー受容体を欠損した植物ではストマジエン遺伝子の状態がどうであれ、気孔の過剰な分化と塊ができます(d-f)。

これら一連の遺伝学的解析は、ストマジエンが ERECTA 受容体を介したシグナル伝達をブロックすることを示唆しています。そこで研究グループは、EPF2 ペプチドが ERECTA シグナル伝達を ON にするのに対して、ストマジエンペプチドは ERECTA シグナル伝達を OFF にするのではないかと考え、それを実証しました。まず、ストマジエンが ERECTA 受容体に直接結合することを Quartz Crystal Microbalance および免疫共沈法を用いて示しました。ストマジエンと ERECTA の解離定数は EPF2 と ERECTA とのそれと似ていることが解りました。さらに、一定量の EPF2 ペプチドに、ストマジエン濃度を上げて混ぜた植物細胞膜面分から ERECTA とペプチドを免疫共沈するという実験から、ストマジエンは EPF2 と競合的に ERECTA と結合することが解りました (図 2)。

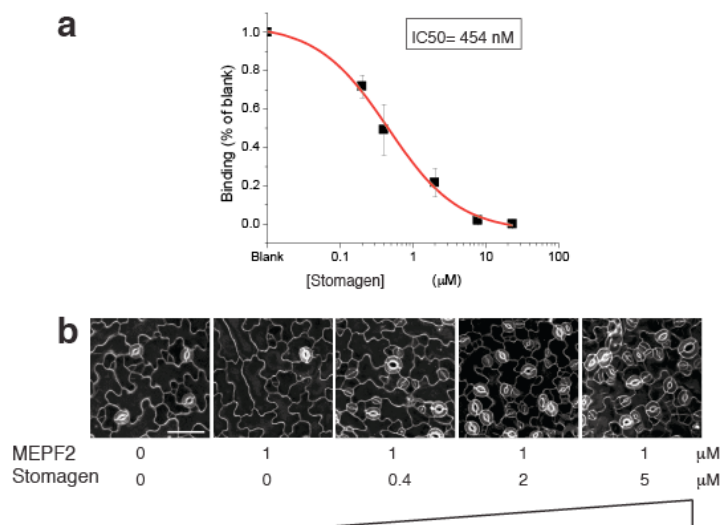


図 2. ストマジエンの EPF2 に対する競合的な ERECTA 受容体への結合



(a) ストマジエンを過剰に添加することにより、ERECTA 受容体へ結合する EPF2 の量が減る (活性を持つ成熟型 EPF2 を MEPF2 とする)。(b) 生化学実験と同濃度のペプチド競合アッセイは、芽生えの気孔の数と分布を反映している。

さらに、ERECTA 受容体を EPF2 が ON にし、逆にストマジエンが OFF にするという仮説を検証するために、シロイヌナズナ芽生えにこれらペプチドを添加し ERECTA 受容体シグナルの下流ではたらくマップキナーゼ (MAP kinase) MPK3 と MPK6 の活性化を調べました。EPF2 ペプチド添加後、約十分でこれらマップキナーゼの活性化の指標であるリン酸化が起きました。一方、ストマジエンペプチド添加では、このような活性化は見られませんでした (図3)。これらの結果から、EPF2 は ERECTA 受容体シグナル伝達のアゴニストとして、一方、ストマジエンはアンタゴニストとして働き、これら2種類の相反するペプチドの競合作用により、植物の葉が生長する過程で適切な気孔の数と分布が決まることが示唆されました (図3)。

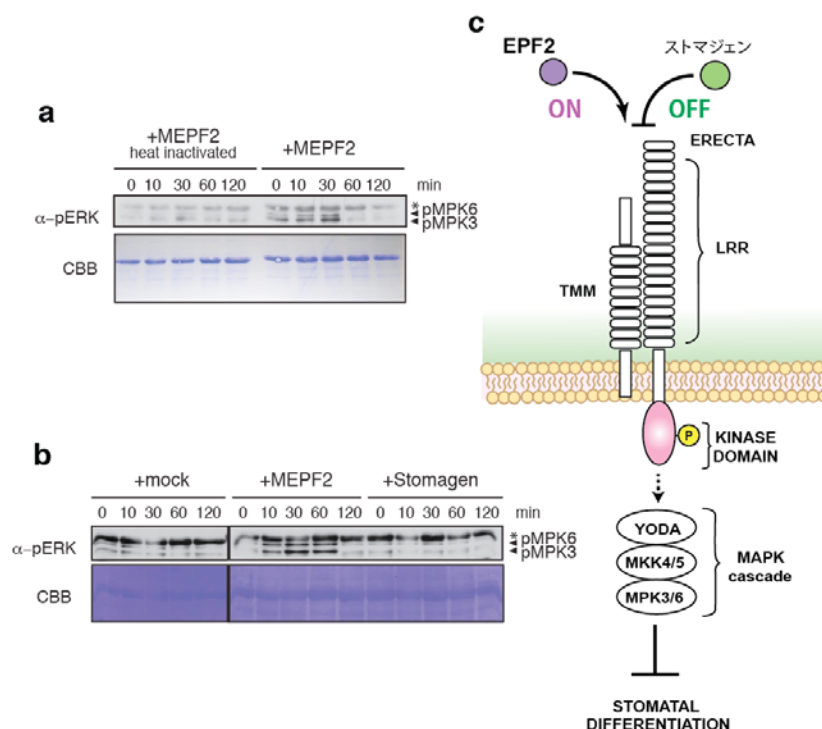


図3. EPF2 とストマジエンペプチドは、それぞれ ERECTA 受容体シグナル伝達を ON・OFF にする

活性型の成熟 EPF ペプチド (MEPF2) 添加により、シロイヌナズナ芽生えでは MAP キナーゼの迅速なリン酸化が起きます (a,b)。熱処理により不活性化した MEPF2 もしくはストマジエンでは、このような MAP キナーゼリン酸化は起こりません (a, b)。今回の研究結果から、EPF2 とストマジエンはそれぞれ ERECTA 受容体を介したシグナル伝達を ON、OFF に制御するスイッチとしての役割を持つ事が示唆されました(c)。

発生過程の子葉や葉では、EPF2 は原表皮細胞の一部から分泌され、一方でストマジエンは光合成組織へと分化する内部の細胞層から表皮へ向けて分泌すると考えられています。今回の結果は、原表皮の細胞は ERECTA 受容体を介して2種類の良く似た、しかし、逆の作用を持つリガンドを結合することにより、気孔系譜になるかならないかという発生運命の決断をしていることを示しています。

なお、気孔の形成を制御するペプチドに関して、これまでに多くの日本人研究者が関わってきました。

例えば、EPF2 の発見は、大阪大学の柿本辰男教授と鳥居啓子教授のグループによるものであり、ストマジェンの発見は、同じく柿本辰男教授と京都大学の西村いくこ教授らのグループによるものです。本分野における日本人研究者のレベルの高さと影響力が見えます。

### 【まとめと今後の展望】

今回の発見は、植物が、生体内で同一の受容体のアゴニストとアンタゴニストとして働くペプチドを生産し、発生・分化を制御している事を明確に示した最初の例であり、ペプチドホルモンの作用機作の新しいメカニズムを提唱したものです。今後、ペプチドホルモンと受容体の構造解析などを介して、受容体を自在に ON・OFF できる薬剤の開発等につながることで、植物の生長と生存を自在に制御することが可能になると期待されます。

### 【掲載雑誌、論文名、著者】

掲載雑誌： Nature (ネイチャー)

論文名： Competitive binding of antagonistic peptides fine-tunes stomatal patterning  
(2つのペプチドの相反する競合作用による気孔パターンの制御)

著者： Jin Suk Lee, Marketa Hnilova, Michal Maes, Ya-Chen Lisa Lin, Aarthi Putarjunan, Soon-Ki Han, Julian Avila, Keiko Torii  
(Jin Suk Lee, Marketa Hnilova, Michal Maes, Ya-Chen Lisa Lin, Aarthi Putarjunan, Soon-Ki Han, Julian Avila, 鳥居啓子)

論文公開日：2015年6月18日午前2時 (日本時間)

### 【本件お問い合わせ先】

名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所 (ITbM)

ホームページ: <http://www.itbm.nagoya-u.ac.jp>

鳥居啓子

TEL: +81-52-747-6899

E-mail: [torii@itbm.nagoya-u.ac.jp](mailto:torii@itbm.nagoya-u.ac.jp)

ホームページ (研究室)

<http://www.itbm.nagoya-u.ac.jp/index-ja.php>

<http://faculty.washington.edu/ktorii/>

\*鳥居教授は、アメリカや日本をはじめとして世界各国で仕事をしています。メールでのお問い合わせが便利です。

名古屋大学 ITbM リサーチプロモーションディビジョン

宮崎亜矢子・佐藤綾人

TEL: +81-52-789-4999 FAX: +81-52-789-3240

E-mail: [press@itbm.nagoya-u.ac.jp](mailto:press@itbm.nagoya-u.ac.jp)

名古屋大学広報室

TEL: +81-52-789-2016 FAX: +81-52-788-6272

E-mail: [kouho@adm.nagoya-u.ac.jp](mailto:kouho@adm.nagoya-u.ac.jp)