NEWS RELEASE

報道関係者　各位

2021 年 11 月 25 日
岡山理科大学
国立大学法人　東京農工大学

植物ホルモン「オーキシン」をリサイクル・分解する経路を解明
—植物ホルモンをリサイクルして利用するしくみが明らかに！農作物やバイオマスなどの増収に向けて大きな一歩—

ポイント

・植物ホルモン・オーキシンは，アミノ酸と結合して，不活性なオーキシン-アミノ酸結合体となり一時的に貯蔵される。この酸結合体から、アミノ酸が除去されてオーキシンへと再生されるリサイクル経路を明らかにした。
・植物はオーキシン-アミノ酸結合体を酸化して分解経路に導くことで，オーキシンがリサイクルされる量を調節する。
・オーキシンによる植物の成長制御機構の解明へとつながる研究。

要旨

岡山理科大学・林謙一郎教授，東京農工大学・笠原博幸教授，カルフォルニア大学サンディエゴ校・Yunde Zhao 教授からなる国際共同研究グループ（岡山理科大学，東京農工大学，カルフォルニア大学サンディエゴ校，理化学研究所環境資源科学研究センター）は，植物ホルモンの 1 種「オーキシン」を不活性化する主要な経路の解明に成功しました。本研究成果は，Nature Communications 誌に掲載されました。掲載先の URL は以下の通りです。

https://www.nature.com/articles/s41467-021-27020-1

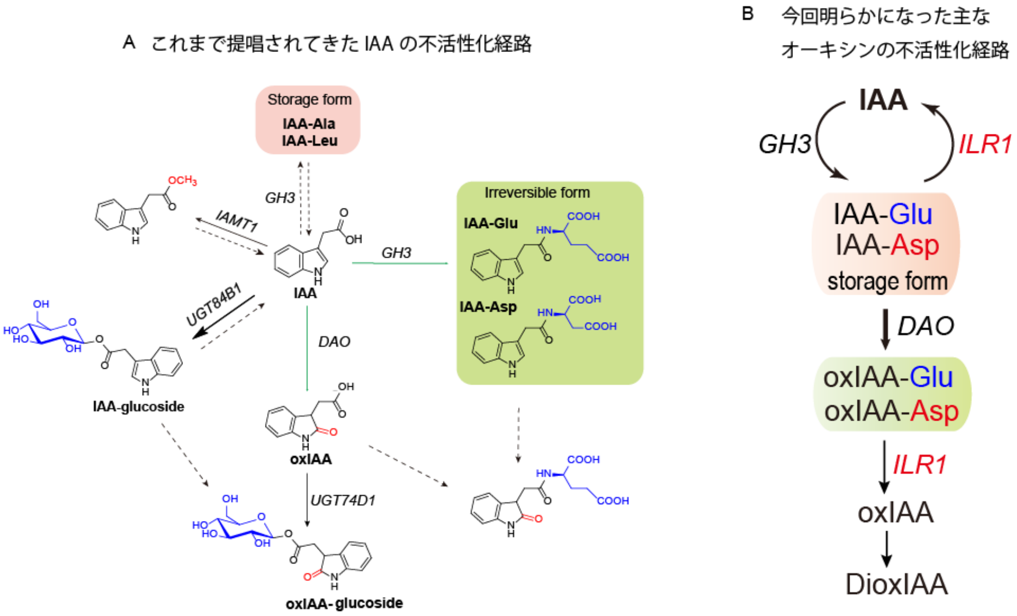
オーキシンは植物の成長調節に中心的な役割を担う成長制御物質です。オーキシンの研究は，ダーウィン親子が行った 19 世紀後半の茎の屈曲研究から始まり，1930 年代中頃にオーキシンとしてインドール-3-酢酸（IAA）が同定されました。IAA（オーキシン）のようなごく微量で作用する植物ホルモンは，適切な量のホルモンが，必要な場所で必要なときに働くことが大切です。植物はオーキシンの量を適切に維持するために，余分なオーキシンを速やかに不活性化していることはわかっていました。しかし，植物がどのようにオーキシンを不活性化・分解して，必要なオーキシンの量を調節するのかは長年にわたる謎でした。今回の研究から，オーキシンは最初にリサイクル可能なオーキシン-アミノ酸結合体に変換されて一時的に貯蔵された後,分解されていくことがわかりました。植物では GH3 という酵素が，IAA をアミノ酸（アスパラギン酸やグルタミン酸）と結合させて不活性な結合体に変換し，一時的に貯蔵します。さらに ILR1 という酵素が，それらの結合を切断することで IAA を再生していること（リサイクル）を明らかにしました。また，リサイクルされなかったオーキシン-アミノ酸結合体は，DAO という酵素が酸化し、分解へと導くことを示しました。オーキシンは，これまでに植物の成長や病害抵抗性・追熟・発根など様々な作用をもつことが知られており，オーキシンの不活性化経路をコントロールできれば，農作物やバイオマスなどの増収に向けて大きな一歩となる発見といえます。

背景

オーキシンの 1 つであるインドール-3-酢酸（IAA）は，植物内で TAA1 と YUCCA という 2 つのオーキシン合成酵素により，アミノ酸のトリプトファンから合成されます。この IAA はさらにオーキシン輸送体によって細胞間を移動し，オーキシン受容体タンパク質を活性化することで，様々なホルモン作用を引き起こします。こうした IAA の生合成や信号伝達のしくみが明らかにされてきましたが，最終的に植物が IAA をどのように処理（不活性化・分解）しているのかという疑問はこれまで解明されていませんでした。植物の基本的な成長制御のしくみを理解するうえでオーキシンの不活性化・分解経路の解明は重要であり，長年にわたる植物学の課題の一つでした。

アブラナ科の植物であるシロイヌナズナ※4 においては，IAA はメチルエステル化，酸化，配糖体化，アミノ酸付加などの 4 つの不活性化経路が存在すると報告されてきました（図 1A）。しかしながら，遺伝学的な解析から，IAA の不活性化はこれら複数の経路が互助的に働いていると考えられてきました。これらの中で，特に，IAA にアミノ酸を結合させて不活性化体に変換する GH3 酵素と，IAA を直接酸化して不活性化体にすると報告されてきた DAO 酵素の 2 つの酵素が，IAA の不活性化で中心的な働きをしていると提唱されていました。しかし，*DAO* 酵素遺伝子を欠損させたり，過剰に生産する変異体においてもオーキシン量や形態の異常は認められないことから，本研究グループは，DAO 酵素の基質は IAA ではないと予想しました。また， GH3 酵素によって合成される IAA－アミノ酸結合体が，オーキシンの分解物でなく，オーキシンの一時的な貯蔵体として働くと推測しました。

図 1　オーキシンの不活性化経路図



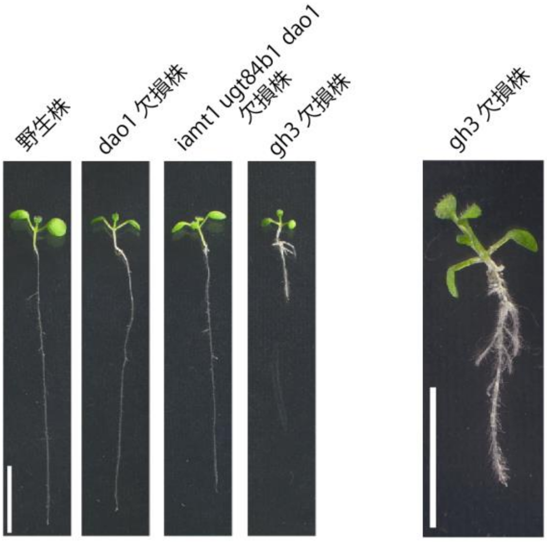
（A）：これまで提唱されてきた複数のオーキシン（IAA）不活性化経路。アブラナ科植物シロイヌナズナでは，少なくとも 4 つの不活性化経路【DAO（酸化酵素），IAMT1（メチルエステル化酵素），UGT84B1（糖転移酵素），GH3（アミノ酸付加酵素）】が報告されている。このうち，DAO 酸化酵素と GH3 アミノ酸付加酵素の 2 つが，オーキシンを不活性化する主な酵素であると考えられてきた。（B）本研究で決定したオーキシンの不活性化経路。同一の経路において，GH3 酵素の下流で DAO 酵素が働き，ILR1 が GH3・DAO と協同してオーキシンのリサイクルを調節する。

研究手法と成果

GH3 酵素は IAA（オーキシン）を不活性化する酵素であり，その遺伝子を欠損させたシロイヌナ

ズナは，オーキシンを過剰に蓄積するため形態異常を示すと推測されます。シロイヌナズナの *GH3* 遺伝子をゲノム編集技術で欠損させたり，GH3 の酵素活性を阻害する薬剤で処理すると，予想通り，オーキシンを過剰に蓄積した形態異常が観察されました（図2）。一方，メチルエステル化（ *IAMT1* ），配糖体化（ *UGT84B1* ），酸化（ *DAO1* ）に関する酵素遺伝子をゲノム編集技術ですべて欠損させても，形態の異常は観察されませんでした。これにより， GH3 酵素が主に IAA の不活性化を担うことが示されました。また，IAA－アミノ酸結合体は，ILR1 加水分解酵素により IAA へと再生されることから，GH3 と ILR1 酵素は逆の作用を示し，IAA のリサイクル（一時的な不活性化と再生）を担っていることが示されました（図 1B）。

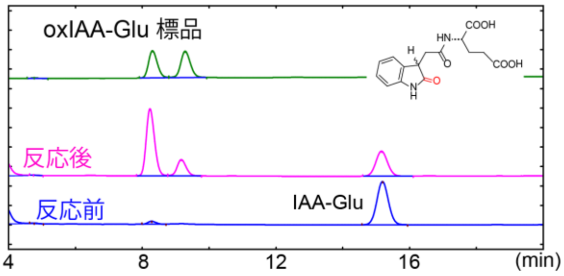
図２　オーキシンは主に GH3 酵素によって不活性化される。



シロイヌナズナ植物をゲノム編集技術によって，オーキシン不活性化酵素 DAO1（酸化酵素），IAMT1（メチル化酵素），UGT84B1（糖転移酵素），GH3（アミノ酸付加酵素）を欠損させると，オーキシン不活性化酵素 GH3 が欠損した植物のみが，オーキシンが過剰に蓄積したため形態が異常になることが示された。このことから，植物では主に GH3 酵素によってオーキシンが不活性化されると考えられた。

次に，高速液体クロマトグラフィー・質量分析計（LC-MS/MS）※5 を用いて，*DAO* 遺伝子や *GH3* 遺伝子を欠損した変異植物に含まれるオーキシン代謝物（不活性化・分解された産物）を詳細に分析しました。驚いたことに *DAO* 遺伝子，*GH3* 遺伝子さらに *ILR1* 遺伝子を欠損した変異植物すべてにおいて，IAA の酸化分解物である oxIAA（2-オキソインドリン 3－酢酸）が検出されませんでした。さらに，遺伝子組換えの手法で DAO 酵素や ILR1 酵素を作成し，その酵素活性を試験管内で検討したところ，DAO 酵素は，従来考えられていた IAA を基質として oxIAA に変換する酸化酵素ではなく，IAA－アミノ酸結合体を基質として，oxIAA-アミノ酸結合体に酸化する酵素であることがわかりました（図 1B）。さらに ILR1 は，この oxIAA-アミノ酸結合体を加水分解して，oxIAA に変換する酵素であることがわかりました。これにより，GH3 酵素によって不活性化された IAA－アミノ酸結合体は，続いて DAO 酵素により oxIAA-アミノ酸結合体に酸化され，さらに ILR1 酵素が oxIAA へと分解することが示されました。また，IAA－アミノ酸結合体は IAA の一時的な貯蔵体として働くことも明らかとなりました。以上のことから，これまで謎であったオーキシンの不活性化・分解経路は，GH3・ILR1・DAO 酵素が同一経路で働くことがわかりました。

図 3　DAO1 酵素反応物の分析結果



DAO1 酵素反応液の HPLC クロマトグラム

IAA-Glu $\xrightarrow{\text{DAO1 酵素}}$ oxIAA-Glu

シロイヌナズナ DAO1 組換え酵素は，IAA-グルタミン酸（IAA－アミノ酸結合体）を基質として酸化し，oxIAA-グルタミン酸（oxIAA-アミノ酸結合体）へと変換した。反応前には検出されなかった oxIAA-グルタミン酸が，反応後に生成物として検出された。

今後の期待

植物の成長の鍵となるホルモン・オーキシンが，どのように不活性化・一時貯蔵・再生・分解されているのか？という謎が解き明かされ，オーキシンによる植物の複雑な成長調節メカニズムの解明がさらに進むと考えられます。化学合成されたオーキシンは，成長促進剤，発根促進剤さらに除草剤などの農薬として，農業分野で幅広く利用されています。今回，オーキシンを分解するしくみが明らかとなったことから，より効果の高い合成オーキシンの開発につながると期待できます。さらに，ゲノム編集技術などで，オーキシンの不活性化・分解をコントロールすることが可能であり，農作物，綿花などの衣料原料，樹木バイオマスなどを増産する新たな研究の道が拓かれると期待できます。

補足説明

１.国際共同研究グループ

岡山理科大学の林謙一郎教授・福井康祐講師，東京農工大学の笠原博幸教授（理化学研究所環境資源科学研究センター客員主管研究員），米国カリフォルニア大学サンディエゴ校の Yunde Zhao 教授の研究室メンバーらで構成。

２.植物ホルモン

植物の成長を極微量で調節する化学物質の総称。植物ホルモンとして，これまでに，オーキシン，ジベレリン，サイトカイニン，エチレン，ジャスモン酸，アブシジン酸，ブラシノステロイド，ストリゴラクトン，サリチル酸などが発見されている。

３.オーキシン

植物の成長や分化の調節で，中心的な役割をはたす植物ホルモン。植物細胞の伸長や分裂を調節することや，光や重力による植物の屈曲に関与する。オーキシンは，植物内で生合成されて，細胞間を極性輸送され，不活性化・分解される。その結果，細胞間でのオーキシン濃度が調節されて，オーキシンの濃度が高くなる細胞では，オーキシンの効果が強くなり，ホルモン作用が活発となる。

４.シロイヌナズナ

アブラナ科シロイヌナズナ属の 1 年草。学名は *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.。モデル実験植物と

して世界中で幅広く利用されている植物。アブラナ科には，大根，小松菜，キャベツ，白菜，ブロッコリーなどの野菜が属する。

５.液体クロマトグラフィー・質量分析計（LC-MS/MS）
液体クロマトグラフィー（LC）とは，化合物を分離する技術の 1 つであり，タンデム型質量分析装置(MS/MS)とは，目的の化合物に由来するイオン（プレカーサーイオン）をさらに分解して得られるイオン（プロダクトイオン）から物質を同定・定量する装置。LC- MS/MS はこれらを組み合わせた質量分析計で，オーキシンのようなごく微量で不安定な物質の分析において威力を発揮する。

原著論文情報

論文名 Main oxidative inactivation pathway of the plant hormone auxin
著者 Ken-ichiro Hayashi（責任著者）, Kazushi Arai, Yuki Aoi, Yuka Tanaka, Hayao Hira, Ruipan Guo, Yun Hu, Chennan Ge, Yunde Zhao, Hiroyuki Kasahara, Kosuke Fukui
掲載紙 **Nature Communications** 12, Article number: 6752 (2021) doi.org/10.1038/s41467-021-27020-1

研究に関する問い合わせ

岡山理科大学
理学部生物化学科　教授
林謙一郎
TEL 086-256-9661
E-mail:　hayashi[at]dbc.ous.ac.jp
[at]を@に置き換えください。

報道に関する問い合わせ

岡山理科大学　入試広報部　（086-256-8214）