

苔類のストレス応答と休眠におけるアブシシン酸の役割

竹澤 大輔

埼玉大学大学院理工学研究科・環境科学研究センター

〒338-8570 さいたま市桜区下大久保 2 5 5

The role of abscisic acid in stress response and dormancy of liverworts

Key words: abscisic acid; desiccation stress; protein phosphatase 2C.

Daisuke Takezawa

Graduate School of Science and Engineering; Institute for Environmental Science and

Technology, Saitama University

Sakura-ku, Saitama, 338-8570, Japan

1. はじめに

アブシシン酸 (ABA) はセスキテルペン化合物で、植物ではよく知られる植物ホルモンの一つである。種子植物においては、ABA が関与するいくつかの特徴的な現象があり、種子の休眠や水ストレスに応答した気孔閉鎖への関与などがその例である。近年、トウモロコシやシロイヌナズナの変異株解析から、ABA 生合成経路や、受容と情報伝達に関わる分子メカニズムの解明が進んでいる (Cutler et al. 2010)。ABA は植物に特有の化合物ではなく、藍藻や緑藻類、菌類、アピコンプレクサ、後生動物にも検出され、さまざまな生理作用を持つことが示唆されている (Hartung 2010)。しかし、これらの生物が同じ ABA 生合成経路や受容機構を持っているかどうかは不明である。いっぽう、コケ、シダを含むさまざまな陸上植物 (Embryophyta) のグループにおいて、ABA が乾燥や浸透圧ストレス応答において果たす役割が明らかとなっており、ABA 応答に関わる陸上植物共通のメカニズムの存在が示唆される。近年、ヒメツリガネゴケ (*Physcomitrella patens*) やゼニゴケ (*Marchantia polymorpha*) の分子解析と遺伝子破壊技術の開発が進むにつれ、陸上植物に保存される ABA 応答に関わる遺伝子群と、植物の適応進化におけるそれらの役割が明らかになることが期待されている (Takezawa et al. 2011)。

2. 植物の陸上適応における ABA の役割

さまざまな陸上植物において ABA が関わる生理的プロセスは多岐にわたるが、その中には種子の成熟、休眠、気孔閉鎖、花芽形成阻害など、高等植物に特徴的なプロセスと、細胞の分裂・伸長阻害や低温・乾燥耐性促進などコケ植物を含めた陸上植物に共通のプロセスが存在する。蘚類や苔類などのコケ植物は、生命活動に必要な水の利用に関して、維管束植物とは異なるメカニズムにより環境に適応している。水が比較的少ない環境下において、維管束植物は根から吸収した水を気孔からの蒸散を制御することにより水の損失を防ぐ。それと比べて、表皮系を持たないコケ植物の栄養組織は、水の損失を防ぐことができないかわりに、細胞レベルでの高い脱水耐性を持ち、乾燥状態においても細胞の傷害を回避する機構を持つと考えられる。コケ植物のこのよ

D. Takezawa-1

うな性質は祖先的植物の陸上での適応に重要な形質であったと考えられ (Oliver et al. 2005), 陸上植物の進化過程で最も初期に分岐したグループであるコケ植物が高い乾燥耐性を持つという事実がそのことを支持している (図1)。

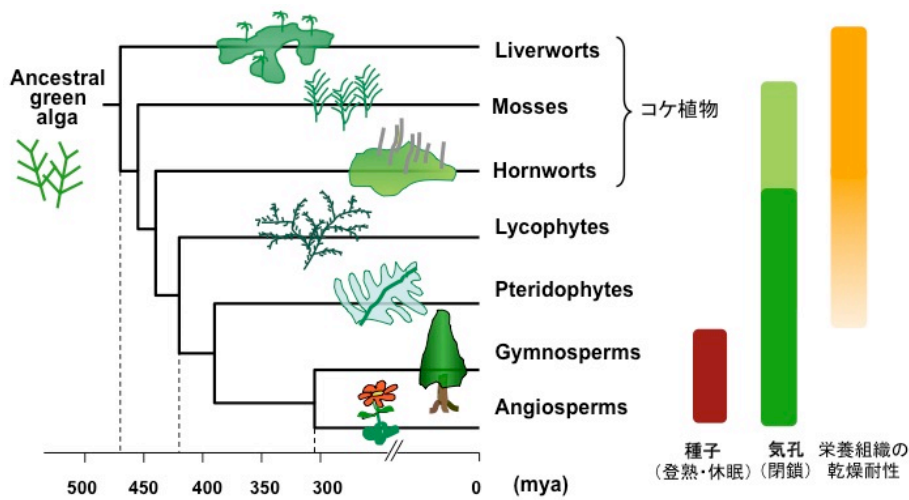


図1. 陸上植物の進化とABAが関わる生理学的過程

筆者はコケ植物の乾燥・乾燥耐性における ABA の役割を明らかにすることにより, 植物の陸上適応に必須であった ABA 応答の原型的機構を解明し, その後の進化過程で多様化した維管束植物の ABA 応答機構についても理解を深めたいと考えている。そこで, モデル植物としての分子解析基盤が整備されつつあるヒメツリガネゴケやゼニゴケを用い, ABA により引き起こされる耐性の変化と, ABA 応答の分子機構に関して解析を行なっている。

3. コケ植物の ABA 応答

コケ植物の ABA は, 主にモノクローナル抗体を用いた手法により蘚類, 苔類およびツノゴケ類の異なる種から検出されている (Hartung et al. 1987, Werner et al. 1991)。胞子体に気孔を持つ蘚類とツノゴケ類では, ABA が気孔の閉鎖を促進することがヒョウタンゴケ (*Funaria hygrometrica*) やナガサキツノゴケ (*Anthoceros punctatus*) において報告されている (Garner and Paolillo 1973, Hartung et al. 1987)。また, 蘚類については, 原系体に ABA が与える生理作用について, 比較的多くの研究報告がある (図2)。蘚類の原系体細胞を ABA 処理すると, その成長が抑制され, 無性生殖形態である brood cell が誘導される。また, ABA は原系体から茎葉体への分化を阻害することも報告されている (Valadon and Mummery 1971, Menon and Lal 1974, Goode et al. 1993, Chopra and Kapur 1989)。ヒョウタンゴケでは, ABA 処理が原系体細胞の乾燥耐性を誘導することが明らかとなっており, 乾燥ストレスが内生 ABA 量を増加させる (Werner et al. 1991)。同じヒョウタンゴケ科に属するヒメツリガネゴケにおいても, 上記のような ABA 処理による形態変化や乾燥・凍結ストレス耐性の増大が報告されている (Goode et al. 1993, Minami et al. 2003)。全ゲノムが解読されたヒメツリガネゴケでは, さらに ABA 応答遺伝子の発現プロファイル解析や, 応答に関わるシグナル因子の機能解析が行なわれている (Cuming et al. 2007, Komatsu et al. 2009,

Chater et al. 2011)。

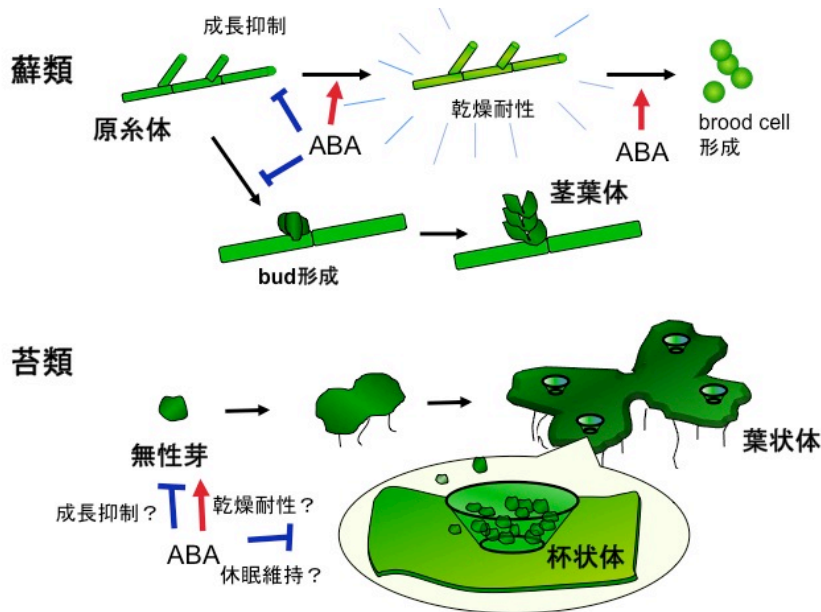


図2. 蘚類と苔類の配偶体におけるABAの役割

これに対し、苔類では、ABA によって引き起される生理応答に関して得られている知見は少ない。しかし、Hellwege および Hartung らの先駆的な研究により、ゼニゴケ目 (Marchantiales) に属する好乾燥性苔類 *Exormothea holstii* と水生の苔類ウキゴケ (*Riccia fluitans*) において、内生 ABA 蓄積と乾燥耐性の関連が明らかにされている (Hellwege et al. 1994, 1996)。また、ウキゴケにおいては、ABA 処理特異的に誘導される LEA 様タンパク質についても報告されている (Hellwege et al. 1996)。ゼニゴケ目以外でも、フタマタゴケ目に属するヤハズゴケ (*Pallavicinia lyellii*) に対し、ABA は乾燥耐性を誘導することが報告されている (Pence et al. 2005)。一方で、ゼニゴケに対しては、ABA は乾燥耐性を誘導しないとの結果も得られている (Pence et al. 2005)。Pryce (1972) は、苔類において ABA が出される例が少ないことから、苔類において ABA の役割は限定的であり、ルヌラリン酸 (LNA) (図3) のような苔類に広く分布する化合物が ABA 様の働きをしている可能性を指摘した (Pryce 1972)。LNA はミカヅキゼニゴケ (*Lunularia cruciata*) の休眠誘導と関連して蓄積する物質として単離され、ゼニゴケ無性芽やレタスの胚軸成長、クレス種子の発芽を抑制することが報告されているほか、緑藻クロレラの耐凍性を増大させるという報告もある (Valio and Schwabe 1970)。しかし、LNA が ABA と同様の作用機構により植物に作用しているかどうかについては不明である。

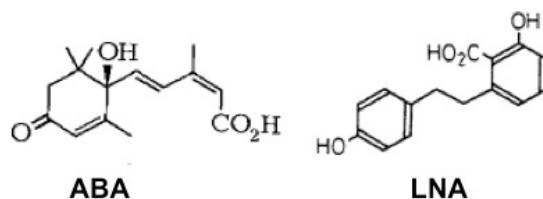


図3. アブシジン酸(ABA)とルヌラリン酸(LNA)

3. ゼニゴケを用いた ABA 応答の進化生物学的研究

筆者らは、苔類 ABA 応答の分子機構を明らかにするため、ゼニゴケを ABA 応答研究のモデル系として確立することを目指し実験を進めてきた。無菌培養条件において ABA の影響を調べたところ、ABA はゼニゴケ無性芽の成長を抑制し、凍結や乾燥に対する耐性の増大を促進することが明らかとなった (Tougane et al. 2010, Akter et al. 2011)。また、ゼニゴケ培養細胞において ABA はコムギ種子の ABA 誘導性遺伝子 *Em* のプロモーター制御下にある *GUS* 遺伝子 (*Em-GUS*) を濃度依存的に活性化した。このことから、筆者らはゼニゴケにも高等植物と共通の ABA 応答に必要な細胞内因子が存在すると考え、京都大学の河内、石崎、近畿大学の和らの協力を得てゼニゴケ ABA 応答関連遺伝子の探索を試みた。

筆者らは、ゼニゴケ EST 配列情報からシロイヌナズナ *ABSCISIC ACID INSENSITIVE1 (ABI1)* のホモログを見だし、*MpABI1* と名付けた。シロイヌナズナ *ABI1* はプロテインホスファターゼ 2C (PP2C) をコードし、特異的な Gly が Asp に変化した *abi-1* 変異は ABA 非感受性表現型を示すことが知られている。シロイヌナズナには *ABI1* を含む 9 遺伝子が「グループ A」PP2C をコードし、これら PP2C は ABA シグナル伝達の負の制御因子であると考えられている。最近、グループ A PP2C が細胞内 ABA 受容体 PYR/PYL/RCAR と直接相互作用し、プロテインキナーゼ SnRK2 の脱リン酸化を介して ABA シグナルを負に制御していることが明らかとなった (Park et al. 2009)。

ゼニゴケ *MpABI1* はシロイヌナズナのグループ A PP2C と C 末端の触媒ドメインにおいて相同性を持ち (図 4)、系統解析からもグループ A に属すると考えられた。いっぽう、N 末端のドメインはシロイヌナズナ PP2C との相同性はなかったが、核移行シグナルを持っており、GFP 融合タンパク質による局在解析実験からも *MpABI1* の核局在に寄与することが示された。

ゼニゴケ細胞の一過的発現アッセイでは、*MpABI1* の過剰発現が ABA 応答的な *Em-GUS* 遺伝子の発現を強く抑制した。また、*MpABI1* 遺伝子を過剰発現するヒメツリガネゴケ形質転換体を作成したところ、その原系体細胞は顕著な ABA 非感受性を示した。すなわち、野生株において ABA により獲得される凍結耐性や高浸透圧耐性が *MpABI1* 過剰発現株では観察されず、ABA 誘導的な LEA タンパク質の蓄積もほとんど見られないことが明らかとなった (Tougane et al. 2010)。

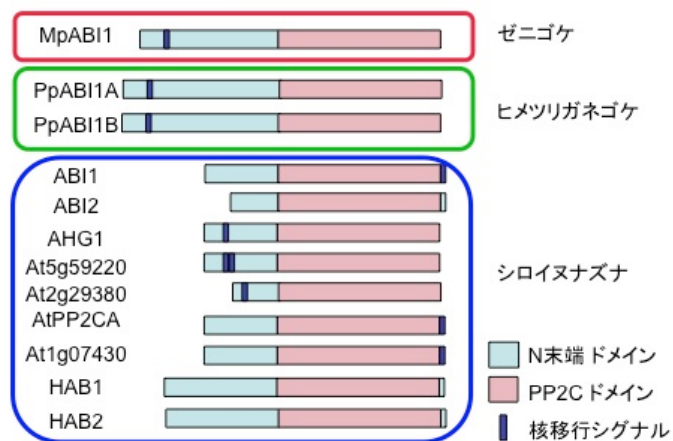


図4. ゼニゴケ、ヒメツリガネゴケおよびシロイヌナズナのグループA PP2Cのポリペプチド構造の比較

D. Takezawa-4

また、*MpABII* 過剰発現株は ABA 応答だけでなく低温馴化能にも欠損があることが明らかとなり、ABA 情報伝達経路が植物の低温応答に関与していることが示唆された (Bhyan et al. 2012)。これらの結果から、苔類にも PP2C を介した ABA 応答制御機構が存在し、ABA 応答に関わる基本的な分子メカニズムが陸上植物間で共通である可能性が示された。

5. 今後の展望

これまでの研究で、気孔も種子も持たない苔類が保存された ABA 応答の分子機構を持ち、ABA が脱水や乾燥などのストレス耐性において機能する陸上植物に普遍的な化合物であることが示唆された。苔類の ABA 応答に関わる転写因子や耐性関連遺伝子の発現制御機構についての詳細は未だ不明であり、前述の一過的発現系や、Ishizaki (2008)らによる形質転換法により、研究のさらなる発展が期待される。苔類における ABA の生理作用、特に、成長や生殖、休眠における役割については未だ不明な点が多い。今後、ゼニゴケの ABA 非感受性株や ABA 合成欠損株を解析することができれば、ABA の生理学的意義を明らかにするとともに、ABA 応答の原型的機構の概要を明らかにできると考えている。

6. 謝辞

本研究は、文部科学省科学研究費補助金・基盤研究(C)および新学術領域研究「植物環境突破力」の助成により進められた。ゼニゴケの培養および遺伝子解析については京都大学の河内孝之博士と石崎公庸博士、近畿大学の和勝幸博士による全面的なサポートを得た。一過的発現系による PP2C の機能解析は東京農業大学の坂田洋一博士、小松憲治博士の貢献により初めて可能になった。ここに深く感謝する。

引用文献

- Akter, K., Tougane, K., Kaneko, M., & Takezawa, D. 2011. Effect of sugar and abscisic acid on freezing and desiccation tolerance in the liverwort *Marchantia polymorpha*. *Cryobiol. Cryotechnol.* 57: 83-86.
- Bhyan, S. B., Minami, A., Kaneko, Y., Suzuki, S., Arakawa, K., Sakata, Y., & Takezawa, D. 2012. Cold acclimation in the moss *Physcomitrella patens* involves abscisic acid-dependent signaling. *J. Plant Physiol.* 169: 137-145.
- Chater, C., Kamisugi, Y., Movahedi, M., Fleming, A., Cuming, A. C., Gray, J. E., & Beerling, D. J. 2011. Regulatory mechanism controlling stomatal behavior conserved across 400 million years of land plant evolution. *Curr. Biol.* 21: 1025-1029.
- Chopra, R. N., & Kapur, A. 1989. Effect of abscisic acid and kinetin on protonemal differentiation in *Timmiella anomala*. *Plant Sci.* 61: 203-206.
- Cuming, A. C., Cho, S. H., Kamisugi, Y., Graham, H., & Quatrano, R. S. 2007. Microarray analysis of transcriptional responses to abscisic acid and osmotic, salt, and drought stress in the moss, *Physcomitrella patens*. *New Phytol.* 176: 275-287.
- Cutler, S. R., Rodriguez, P. L., Finkelstein, R. R., & Abrams, S. R. 2010. Abscisic acid: emergence of a

- core signaling network. *Annu. Rev. Plant Biol.* 61: 651–79.
- Garner, L. B., & Paolillo, D. J. 1973. On the functioning of the stomates in *Funaria*. *Bryologist* 76: 423-427.
- Goode, J. A., Stead, A. D., & Duckett, J. G. 1993. Redifferentiation of moss protonemata: an experimental and immunofluorescence study of brood cell formation. *Can. J. Bot.* 71: 1510-1519.
- Hartung, W., Weiler, E. W., & Volk, O. H. 1987. Immunochemical evidence that abscisic acid is produced by several species of Anthocerotae and Marchantiales. *Bryologist* 90: 393-400.
- Hartung, W. 2010. The evolution of abscisic acid (ABA) and ABA function in lower plants, fungi and lichen. *Funct. Plant Biol.* 37: 806-812.
- Hellwege, E. M., Dietz, K. J., Volk, O. H., & Hartung, W. 1994. Abscisic acid and the induction of desiccation tolerance in the extremely xerophilic liverwort *Exormotheca holstii*. *Planta* 194: 525–531.
- Hellwege, E. M., Dietz, K. J., & Hartung, W. 1996. Abscisic acid causes changes in gene expression involved in the induction of the landform of the liverwort *Riccia fluitans* L. *Planta* 198: 423-432
- Ishizaki, K., Chiyoda, S., Yamato, K. T., & Kohchi, T. 2008. *Agrobacterium*-mediated transformation of the haploid liverwort *Marchantia polymorpha* L., an emerging model for plant biology. *Plant Cell Physiol.* 49: 1084-1091.
- Komatsu, K., Nishikawa, Y., Ohtsuka, T., Taji, T., Quatrano, R. S., Tanaka, S., & Sakata, Y. 2009. Functional analyses of the ABI1-related protein phosphatase type 2C reveal evolutionarily conserved regulation of abscisic acid signaling between Arabidopsis and the moss *Physcomitrella patens*. *Plant Mol. Biol.* 70: 327-340.
- Menon, M. K. C., & Lal, M. 1974. Morphogenetic role of kinetin and abscisic acid in the moss *Physcomitrium*. *Planta* 115: 319-328.
- Minami, A., Nagao, M., Arakawa, K., Fujikawa, S., & Takezawa, D. 2003. Abscisic acid-induced freezing tolerance in the moss *Physcomitrella patens* is accompanied by increased expression of stress-related genes. *J. Plant Physiol.* 160: 475-483.
- Oliver, M. J., Velten, J., & Mishler, B. D. 2005. Desiccation tolerance in bryophytes: a reflection of the primitive strategy for plant survival in dehydrating habitats? *Integr. Comp. Biol.* 45: 788–799.
- Park, S. Y., Fung, P., Nishimura, N., Jensen, D. R., Fujii, H., Zhao, Y., Lumba, S., Santiago, J., Rodrigues, A., Chow, T. F., Alfred, S. E., Bonetta, D., Finkelstein, R., Provart, N. J., Desveaux, D., Rodriguez, P. L., McCourt, P., Zhu, J. K., Schroeder, J. I., Volkman, B. F., & Cutler, S. R. 2009. Abscisic acid inhibits type 2C protein phosphatases via the PYR/PYL family of START proteins. *Science* 324: 1068-1071.
- Pence, V. C., Dunford, S. S., & Redella, S. 2005. Differential effects of abscisic acid on desiccation tolerance and carbohydrates in three species of liverworts. *J. Plant Physiol.* 162: 1331-1337.
- Pryce, R. J. 1972. The occurrence of lunularic acid and abscisic acid in plants. *Phytochemistry* 11: 1759-1761.
- Takezawa, D., Komatsu, K., & Sakata, Y. 2011. ABA in bryophytes: how a universal growth regulator in life became a plant hormone? *J. Plant Res.* 124:437-453.
- Tougane, K., Komatsu, K., Bhyan, S. B., Sakata, Y., Ishizaki, K., Yamato, K. T., Kohchi, T., & Takezawa,

- D. 2010. Evolutionarily conserved regulatory mechanisms of abscisic acid signaling in land plants: characterization of ABSCISIC ACID INSENSITIVE1-like type 2C protein phosphatase in the liverwort *Marchantia polymorpha*. *Plant Physiol.* 152: 1529-1543.
- Valadon, L. R. G., & Mummery, R. S. 1971. Quantitative relationship between various growth substances and bud production in *Funaria hygrometrica*. A bioassay for abscisic acid. *Physiol. Plant.* 24: 232-234.
- Valio, I. F. M., & Schwabe, W. W. 1970. Growth and dormancy in *Lunularia cruciate* (L.) Dum. VII. The isolation and bioassay of lunularic acid. *J. Exp. Bot.* 21: 138-150.
- Werner, O., Espin, R. O. S., Bopp, R. M., & Atzorn, R. 1991. Abscisic acid-induced drought tolerance in *Funaria hygrometrica* Hedw. *Planta* 186: 99-103.