

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年5月23日現在

機関番号：10101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2018

課題番号：16K14747

研究課題名(和文)新しい実験系による植物の平面内細胞極性研究の新展開

研究課題名(英文)New challenge on planar cell polarity in plants

研究代表者

藤田 知道(Fujita, Tomomichi)

北海道大学・理学研究院・教授

研究者番号：50322631

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：ハエの翅の剛毛や哺乳類内耳の有毛細胞等の毛はそれらの配向が一樣に揃っている。このように個々の細胞の極性(細胞極性)が、組織平面内の特定の方向に揃っていることを平面内細胞極性(planar cell polarity, PCP)と呼んでおり、生物の高次機能に大切である。動物に比べ植物ではPCPを制御する分子基盤の解明はあまり進んでいない。そこで我々はヒメツリガネゴケの原系体がPCPの仕組みの研究に優れていることに注目し、本研究において独自に単離した植物特異的な貫通型タンパク質が植物ホルモンであるオーキシンや細胞骨格系の微小管とともにPCP制御に重要であることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

平面内細胞極性(planar cell polarity, PCP)は、生物の高次機能に大切であり、その破綻は生命活動を直接脅かす。動物においてPCPの分子メカニズムの研究は進んできた一方で、植物のPCP制御の研究はあまり進んでいなかった。本研究により、植物のPCP制御に大事な複数の因子を新しく明らかにできたことは学術的意義が高く、この研究を手掛かりに植物のPCP制御の分子基盤の全容解明とまた植物種間や器官間におけるPCP制御の多様性や普遍性の研究への発展が期待できる。

研究成果の概要(英文)：How cell polarity is established and maintained is a fundamental question for all organisms. The moss, *Physcomitrella patens* serves as an excellent model for studying cell polarity due to its easy observation at a cell level, high frequency of gene targeting and available genome information. In order to understand cell polarity regulation in plants, we studied a plant specific, plasma membrane protein in this research by generating overexpression or knock-out mutant lines and performed RNA-seq analysis in these mutants. Thus, we found this gene is, together with auxin signaling factors and microtubule, involved in cell polarity regulation in the moss protonemata.

研究分野：植物分子生理学

キーワード：ヒメツリガネゴケ 平面内細胞極性

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

多細胞生物において、個々の細胞が組織平面の特定の軸に沿った極性を協調的に示す場合がある。これは平面内細胞極性(planar cell polarity, PCP)と呼ばれる。PCPの制御は組織の適切な構築や維持、原腸陥入時の細胞運動などさまざまな高次機能の基盤となっており、その破綻は生命活動を脅かす(Ohata et al. 2014, Neuron)。このようにPCPの制御機構を理解することは、多細胞生物の発生の基本原理の一つを解明することになる。

動物では共通のPCP制御系の存在が明らかになってきた(Tissir & Goffinet, 2014, Nat. Rev. Neurosci.)。一方植物でもPCPの制御は重要であるものの、その異常は細胞極性の崩壊や分裂面の異常など多面的な発生異常となり、またPCPを直接研究できるよい実験系に乏しいことなどからその研究は遅れている(Enugutti et al. 2013, Protoplasma)。したがって、これまでに根毛やトライコームなどごく限られたモデルを中心に研究が進められ、オーキシンの濃度勾配や低分子量Gタンパク質、細胞骨格などの関与が明らかになってきた(Pietra et al. 2013, Nat. Commun.)。しかし、根の器官全体に及ぶオーキシンの組織レベルの濃度勾配が個々の根毛細胞においてどのように解釈され、またどの分子を介して細胞極性へと変換されるのかはわかっておらず、情報はごく断片的でありさらに多くの制御分子の特定が必要である。動物で共通に見出されたWntやFrizzledなどPCPの鍵となる制御タンパク質群が植物ゲノムには見出せず、植物独自のPCP制御機構の存在が考えられているもののその全体像はよくわかっておらず、植物には共通の分子基盤があるのかもわかっていない(Nakamura et al. 2012, Curr. Opin. Plant Biol.)。

申請者はコケ植物(ヒメツリガネゴケ, *Physcomitrella patens*)の原系体はシンプルで扱いやすく、細胞が露出しているため細胞極性や不等分裂過程を生きたまま容易に観察できる優れた実験系であることに着目し研究をすすめている。そして同じ理由で原系体はPCPの研究にも非常に優れた実験系となることに気がついた。さらに極性因子として解析中の新奇因子の1つがPCPの制御に関わることに気がついた。

2. 研究の目的

これまでの研究から、我々はヒメツリガネゴケの原系体の分枝形成が平面内細胞極性の分子機構の研究に優れていることに気づいた。また植物特異的な1回膜貫通型の新奇タンパク質がこの制御に関わっていることを明らかにしてきた。そこで本研究はこの膜タンパク質を中心に機能解析を進め、植物PCP制御の分子基盤の全貌解明とその進化的理解を目指す。

3. 研究の方法

ヒメツリガネゴケは体制が比較的単純であり、細胞が露出していることからライブセルイメージングなど細胞レベルの観察に適している。また全ゲノム情報が利用可能であり、ゲノム編集などの遺伝子機能解析技術も容易に適応できる。したがって、細胞生物学、生化学、分子遺伝学的手法を中心として本研究を進める。

我々はこれまでの研究から、ヒメツリガネゴケの原系体の分枝形成が平面内細胞極性の分子機構の研究に優れていることに気づき、また植物特異的な1回膜貫通型の新奇タンパク質がこの制御に関わっていることに気がついた。そこで本研究はとりわけこの膜タンパク質の機能解析を進め、その後相互作用因子を明らかにし、これらの分子がPCPをどのように制御するのかを明らかにする。この研究を通じて植物PCP制御の分子基盤の全貌解明とその進化的理解を目指し、PCP研究に新たな突破口を切り開く。当該年度は、前年度に引き続きPCPそのも

のやこの膜タンパク質(n1p)がどのようなシグナル系(オーキシン、低分子量 G タンパク、細胞骨格系など)と関係しており、またこの膜タンパク質がどのように PCP を制御するのかに関する研究を遺伝学的手法やイメージングなどにより実施した。

4 . 研究成果

本研究では、上述の植物特異的な膜タンパク質の機能解析を中心に研究を進めた。その結果この膜タンパク質がとりわけオーキシン信号伝達系および細胞骨格系のなかでも微小管の制御と密接に関係しながら PCP を制御するようであることを明らかにした。さらに PCP 制御に重要な膜タンパク質の機能ドメインを明らかにした。この膜タンパク質に類似性の高いタンパク質は被子植物では見出せないが、関係するオーキシン信号伝達系の因子や微小管はコケ植物と被子植物で共通であり、植物の PCP 制御に共通の制御部分の存在が示唆できた。

具体的には、(1)まず、n1p 膜タンパク質の機能欠損株、誘導的過剰発現株における機能解析について解析を進めた。n1p とそのパラログの 2 重遺伝子破壊株を作成し、確立した。2 重遺伝子破壊株について、分枝形成の様子など PCP 制御との関連を調査したが、これまでの所 PCP に関わる表現型を見出すことはできなかった。特に C 末端を欠損させた n1p 変異体の誘導的過剰発現株の作成を行い、分枝形成など PCP との関わりを調査した。その結果、C 末領域の重要性を示唆する結果を得ることができた。

(2)次に、オーキシン濃度勾配との関係の解析を進めた。ヒメツリガネゴケのオーキシン排出タンパク PIN 可視化株を用いた研究から原系体の基部から頂端に向かうオーキシンの流れが示唆された(Viaene et al. 2014, Curr. Biol.)。したがって原系体においても根毛等と同様にオーキシン勾配が PCP のグローバルな位置情報に重要な可能性が考えられる。そこで、オーキシンやオーキシン極性輸送阻害剤等処理し、オーキシンの濃度勾配を見出すことで、PCP の制御が乱れるか否かを調査した。その結果、オーキシンの濃度勾配を阻害しても分枝形成等は正常に起こることがわかった。この一方で、アブシジン酸で処理すると分枝の形成が阻害されることを見出した。しかし、アブシジン酸が PCP に関わるかどうかは、さらに詳細な解析が必要である。

(3)n1p タンパク質と細胞骨格との関係調べるため、細胞骨格であるチューブリンを可視化した GFP-tubulin 株を背景に、n1p の誘導的過剰発現株を作成し、過剰発現時の微小管の配向などの変化を調査した。その結果、フラグモプラスト微小管が通常では形成されない位置に形成されることがわかった。また微小管そのものの長さの平均値が、野生型に比べ、n1p 過剰発現株では、短くなる傾向にあることがわかった。このような微小管の変化と PCP の関係は今後さらに詳細に調査する価値があると考えられた。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

1. Takemura, K., Kamachi, H., Kume, A., Fujita, T., Karahara, I., and Hanba, Y.-T. (2017) A hypergravity environment increases chloroplast size, photosynthesis, and plant growth in the moss *Physcomitrella patens*. *Journal of Plant Research*, 130, 181-192. DOI: 10.1007/s10265-016-0879-z. (査読有)

〔学会発表〕(計 5 件)

1. 鄭恵国, Ren Junling, 長谷部 光泰, 藤田 知道

Ancient arabinogalactans modulate auxin signaling in *Physcomitrella patens* to regulate polarity

第 60 回日本植物生理学会年会 2019 年

2. 進藤千聖, Ooi-Kock Teh, Junling Ren, 長谷部光泰, 藤田知道

ヒメツリガネゴケの平面内細胞極性における細胞膜局在型タンパク質のドメイン機能解析

第 59 回日本植物生理学会年会 2018 年

3. Yao Jiawei, Teh Ooi-Kock, Fujita Tomomichi Functional analysis of RopGEFs in planar cell polarity in the moss *Physcomitrella patens* 第 59 回日本植物生理学会年会

2018 年

4. 進藤千聖, Ooi-Kock Teh, Ren Junling, 長谷部光泰, 藤田知道

ヒメツリガネゴケの平面内細胞極性における細胞膜局在型タンパク質のドメイン機能解析

日本植物学会 2017 年

5. 進藤千聖, Ren Junling, 藤田知道

ヒメツリガネゴケの平面内細胞極性における細胞膜局在型タンパク質の機能解析

日本植物学会 2016 年

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年:

国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6．研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：進藤 千聖

ローマ字氏名：Shindoh Chisato

研究協力者氏名：鄭 恵国

ローマ字氏名：Ooi-Kock The

研究協力者氏名：姚 嘉偉

ローマ字氏名：Yao Jiawei

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。