

平成 21 年 5 月 24 日現在

研究種目：若手研究(B)  
 研究期間： 2006 ～ 2008  
 課題番号： 18770050  
 研究課題名（和文） ライブイメージングと微細構造観察による、植物液胞の構造・  
 動態と機能に関する研究  
 研究課題名（英文） Live imaging and ultrastructural study about dynamics, structure,  
 and function of plant vacuole  
 研究代表者  
 齊藤 知恵子 (SAITO CHIEKO)  
 独立行政法人理化学研究所・中野生体膜研究室・専任研究員  
 研究者番号：10321762

## 研究成果の概要：

研究代表者が 2002 年に報告した、液胞上のサブ領域様構造 bulb について、更なる「構造的な証拠」、「質的な差異の証拠」、「機能の手がかりとなる変異体」、などを得ることを目指して研究を進めてきた。これまで知られていたマーカー以外でも bulb が可視化されること、多くの組織や器官で bulb が出現すること、bulb 上で二つのタンパク質の濃縮度が異なること、また、二つの変異体で bulb が減ること、を見出した。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	1,500,000	0	1,500,000
2007年度	1,100,000	0	1,100,000
2008年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,700,000	330,000	4,030,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：形態・構造

キーワード：植物形態

## 1. 研究開始当初の背景

研究代表者は、シロイヌナズナ液胞膜上で三次元的に複雑に折り畳まれた球状の構造 bulb を見出し 2002 年に報告した。この領域でタンパク質の選択的濃縮や排除が起こっているサブ領域様構造である可能性も示唆された。

## 2. 研究の目的

この液胞膜上のサブ領域様構造は、形態的に興味深いだけでなく、「連続した液胞膜中にも機能分化が起こる可能性」を提起する魅力的な研究対象である。そこで、bulb に関する「更なる構造的な証拠」「質的な差異の証

拠」「機能の手がかりとなる変異体」を得て、ライブイメージングと微細構造観察を行なうことにした。

## 3. 研究の方法

「更なる構造的な証拠」については、様々な蛍光マーカーを発現する形質転換体を自作あるいは分与してもらい、観察した。「質的な差異」については、一つの細胞の中で別々の蛍光タンパク質でラベルした二種類の液胞膜マーカータンパク質を発現させ、bulb における濃縮度を比較した。「機能の手がかりとなる変異体」については、液胞膜を蛍光タンパク質でラベルした形質転換体を

親株に、EMS 変異原処理を施し、bulb が異常になる変異体を探索する順遺伝学と、花茎の重力屈性変異体の解析の途中で液胞の形態に異常が生じることを研究代表者自身が観察している既知の変異体との掛け合わせによる逆遺伝学の両方を行なった。

#### 4. 研究成果

bulb の「更なる構造的な証拠」については、花器官を含む組織においても観察されること、別の蛍光マーカーの発現によっても可視化されるという複数の結果を得た。Bulb における「質的な差異」については、bulb では、GFP-AtRab75 よりも TagRFP-AtVam3 の方が濃縮していることを定量的に明らかにした。「機能の手がかりとなる変異体」については、逆遺伝学的アプローチから、*zig-1/sgr4-1*, *sgr2-1* で bulb の頻度が激減することを明らかにした。*zig-1* に関しては、bulb が高頻度で生じるタイミングで電子顕微鏡観察を行ない、PSV が Lytic vacuole に変換する過程あるいはそれに伴って起こると考えられる小型の液胞同士の融合に欠損があることが示唆された。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

Fujimoto, M., Arimura, S.I., Mano, S., Kondo, M., Saito, C., Ueda, T., Nakazono, M., Nakano, A., Nishimura, M., and Tsutsumi, N. Arabidopsis dynamin-related proteins DRP3A and DRP3B are functionally redundant in mitochondrial fission, but have distinct roles in peroxisomal fission. *Plant J.* (in press), (2009), 査読あり.

Morita, M.T., Saito, C., Nakano, A., and Tasaka, M. endodermal-amyloplast less 1 is a novel allele of SHORT-ROOT. *Advances in Space Research* **39**, 1127-1133. (2007), 査読あり.

[学会発表] (計 40 件)

(1) 齊藤 知恵子, 植村 知博, 井藤 純, 安部 弘, 上田 貴志, 中野 明彦: “液胞膜上に生じるサブ領域様困bulbに関する研究”, 日本植物学会第70回大会, 熊本, 9月 (2006).

(2) 齊藤 知恵子, 栗井 千絵, 相田 純, 中野 明彦: “光変換型可視マーカー発現のための植物用ベクターの整備と応用”, 理研シンポジウム「第5回理研・分子研合同シンポジウム: エクストリームフォトニクス研究」, 和光, 4月 (2007).

(3) 齊藤 知恵子, 栗井 千絵, 中野 明彦: “高等植物の液胞が持つ複雑な立体困とその機構” 22, バイオアーキテクトシンポジウム2007, 和光, 9月 (2007).

(4) 齊藤 知恵子, 栗井 千絵, 相田 純, 植村 知博, 中野 明彦: “光刺激型可視マーカータンパク質の植物細胞への応用: 液胞膜サブ領域へのアプローチに向けて”, 第6回エクストリーム・フォトニクス研究会「先端光源開発と量子科学への応用」, 蒲郡, 11月 (2007).

(5) 齊藤 知恵子, 栗井 千絵, 相田 純, 植村 知博, 浜村 有希, 東山 哲也, 中野 明彦: “植物細胞におけるオルガネラのダイナミクスと機認刺激型可視マーカーと遺伝学を用いて”, 理研シンポジウム「第7回理研・分子研合同シンポジウム: エクストリームフォトニクス研究」, 和光, 5月 (2008).

(6) 齊藤 知恵子, 栗井 千絵, 井藤 純, 植村 知博, 浜村 有希, 東山 哲也, 中野 明彦: “蛍光タンパク質を用いたオルガネラのダイナミクスと機認解析”, 日本植物形態学会第20回総会・大会, (日本植物形態学会), 高知, 9月 (2008).

(7) 齊藤 知恵子, 栗井 千絵, 植村 知博, 上田 貴志, 安部 弘, 森田 (寺尾) 美代, 中野 明彦: “Genetical approach for the function of the “bulb”, complex vacuolar membrane”, 理研PSC・かずさDNA研究所・木原生物学研究所合同リトリート2008, (植物科学研究センター), 木更津, 10月 (2008).

(8) 齊藤 知恵子, 栗井 千絵, 植村 知博, 井藤 純, 浜村 有希, 東山 哲也, 中野 明彦: 第8回エクストリーム研究会 (分子研・理研共催), 蒲郡, 11月 (2008).

(9) 齊藤 知恵子, 栗井 千絵, 植村 知博, 上田 貴志, 安部 弘, 中野 明彦: “植物の液胞膜上に生じる複雑な困bulbに関する遺伝学的アプローチ”, バイオアーキテクトII第3回合同ミーティング, (バイオアーキテクトII研究推進グループ), 越後湯沢, 1月 (2009).

(10) 齊藤 知恵子, 栗井 千絵, 植村 知博, 富永基樹, 安部 弘, 森田 (寺尾) 美代, 上田 貴志, 中野 明彦: “液胞上に生じる複雑な膜困bulbが減少する変異体の同定と微細困観察”, 第50回日本植物生理学会年会, (日本植物生理学会), 名古屋, 3月 (2009).

(11) Ito J., Uemura T., Saito C., Motose M. U., Kubo M., Demura T., Fukuda H., Nakano A., and Ueda T.: “A role of the vesicular traffic in xylem differentiation”, 2007 Plant Winter Conference, (Pohang University of Science and Technology), Pohang, Korea, Jan. --Jan. (2007).

(12) 井藤 純, 齊藤 知恵子, 植村 知博, 久保稔, 出村 拓, 福田 裕穂, 上田 貴志, 中野 明彦: “木部分化過程におけるオルガネラのダイナミクス”, 第48回日本植物生理学会年会, 松山, 3月 (2007).

(13) Ito J., Uemura T., Saito C., Abe H., Kubo M., Motose M. U., Demura T., Fukuda H., Ueda T., and Nakano A.: “Roles of membrane traffic in xylem

differentiation", 18th International Conference on Arabidopsis Research, Beijing, China, June (2007).

(14)中野 雄司, 山上 あゆみ, 小松 知之, 齊藤 知恵子, 中野 明彦, 辻本 雅文, 浅見 忠男: "植物オルガネラに局在するブラシノステロイド情報遺伝子の細胞内生体イメージングに基づく植物細胞制御機採解明", バイオアーキテクトシンポジウム2007, 和光, 9月 (2007).

(15)浜村 有希, 齊藤 知恵子, 佐々木 成江, 中野 明彦, 東山 哲也: "初めて捉えた重複受精の瞬間: 鞭毛のない2つの精細胞の動態", 日本植物学会第71回大会, 野田, 9月 (2007).

(16)森田 (寺田) 美代, 齊藤 知恵子, 中野 明彦, 田坂 昌生: "シロイヌナズナの重力感受におけるオルガネラ動態の制御機構' 22, バイオアーキテクトシンポジウム2007, 和光, 9月 (2007).

(17)山上 あゆみ, 中野 雄司, 齊藤 知恵子, 中澤 美紀, 松井 南, 作田 正明, 中野 明彦, 辻本 雅文, 吉田 茂男, 浅見 忠男: "ブラシノステロイド情報伝達突然変異体bil4, bil3の機避析", 植物化学調節学会第42回大会, (植物化学調節学会), 静岡, 10月 (2007).

(18)Shoda K., Saito C., Uemura T., Ueda T., and Nakano A.: "Studies of development and functions of the Golgi apparatus in higher plants", International Symposium on Membrane Traffic, Awaji, Nov. (2007).

(19)山上 あゆみ, 中野 雄司, 齊藤 知恵子, 中澤 美紀, 松井 南, 作田 正明, 中野 明彦, 辻本 雅文, 吉田 茂男, 浅見 忠男: "液胞膜およびトランスゴルジネットワーク (TGN) に局在するブラシノステロイド情報伝達因子BIL4の機避析", 第49回日本植物生理学会年会, 札幌, 3月 (2008).

(20)小松 知之, 中野 雄司, 中澤 美紀, 松井 南, 齊藤 知恵子, 中野 明彦, 川出 洋, 夏目 雅裕, 安部 浩, 辻本 雅文, 浅見 忠男: "植物ステロイドホルモン生合成阻害剤を用いた植物化学遺伝学 ブラシノステロイド情報伝達突然変異体bss1, bpg2の原因遺伝子の解析-", 日本ケミカルバイオロジー研究会第3回年会, (日本ケミカルバイオロジー学会), 東京, 5月 (2008).

(21)山上 あゆみ, 中野 雄司, 齊藤 知恵子, 中澤 美紀, 松井 南, 作田 正明, 中野 明彦, 辻本 雅文, 吉田 茂男, 浅見 忠男: "植物ステロイドホルモン生合成阻害剤を用いた植物化学遺伝学~ブラシノステロイド情報伝達突然変異体bil4, bil3の機避析~, 日本ケミカルバイオロジー研究会第3回年会, (日本ケミカルバイオロジー研究会), 東京, 5月 (2008).

(22)山上 あゆみ, 中野 雄司, 齊藤 知恵子, 中澤 美紀, 松井 南, 作田 正明, 中野 明彦, 辻本 雅文, 吉田 茂男, 浅見 忠男: "植物ステロイ

ドホルモン生合成阻害剤を用いた植物化学遺伝学~ブラシノステロイド情報伝達突然変異体bil4, bil3の機避析~, 第1回理研ケミカルバイオロジー研究領域国際シンポジウム, 熱海, 9月 (2008).

(23)小松 知之, 中野 雄司, 中澤 美紀, 松井 南, 齊藤 知恵子, 中野 明彦, 川出 洋, 夏目 雅裕, 安部 浩, 辻本 雅文, 浅見 忠男: "植物ステロイドホルモン生合成阻害剤を用いた植物化学遺伝学~ブラシノステロイド情報伝達突然変異体bss1, bpg2の原因遺伝子の解析~, 第1回理研ケミカルバイオロジー研究領域国際シンポジウム, 熱海, 9-9月 (2008).

(24)富永 基樹, 安部 弘, 齊藤 知恵子, 庄田 恵子, 栗井 千絵, 植村 知博, 上田 貴志, 中野 明彦: "ミオシンによる植物特異的膜交通制御機採解明", 日本植物学会第72回大会, (日本植物学会), 高知, 9月 (2008).

(25)山上 あゆみ, 中野 雄司, 吉澤 江里子, 齊藤 知恵子, 中澤 美紀, 松井 南, 作田 正明, 中野 明彦, 辻本 雅文, 浅見 忠男: "ブラシノステロイド情報伝達突然変異体bil4の原因遺伝子の局在およびbil3の機避析", 植物化学調節学会第43回大会, (植物化学調節学会), つくば, 10月 (2008).

(26)小松 知之, 中野 雄司, 中澤 美紀, 齊藤 知恵子, 中野 明彦, 川出 洋, 夏目 雅裕, 安部 浩, 辻本 雅文, 浅見 忠男: "ブラシノステロイド情報伝達突然変異体bpg2, bss1の原因遺伝子の葉緑体制御・発生制御における機販解明", 植物化学調節学会第43回大会, (日本植物化学調節学会), つくば, 10月 (2008).

(27)Hamamura Y., Ingouff M., Saito C., Kanaoka M., Sasaki N., Nakano A., Berger F., and Higashiyama T.: "Real time imaging of double fertilization in Arabidopsis thaliana", Frontiers of Sexual Plant Reproduction III, (University of Arizona), Tucson, USA, Oct. (2008).

(28)富永 基樹, 安部 弘, 齊藤 知恵子, 庄田 恵子, 栗井 千絵, 植村 知博, 上田 貴志, 中野 明彦: "膜交通機幸における植物特異的ミオシンVIIIとXIの機犯制御", 日本生物物理学会第46回年会, (日本生物物理学会), 福岡, 12月 (2008).

(29)富永 基樹, 安部 弘, 齊藤 知恵子, 庄田 恵子, 栗井 千絵, 植村 知博, 上田 貴志, 中野 明彦: "メンブレントラフィックにおける植物特異的ミオシンVIIIとXIの機能' 22, 2009年生体運動研究合同班会議, (生体運動研究合同班), 東京, 1月 (2009).

(30)安部 弘, 齊藤 知恵子, 中野 明彦: "シロイヌナズナAtVAM6タンパク質の機避析", バイオアーキテクトII第3回合同ミーティング, 越後湯沢, 1月 (2009).

(31)小松 知之, 川出 洋, 齊藤 知恵子, 中澤 美紀, 松井 南, 中野 明彦, 辻本 雅文, 夏目 雅裕, 安部 浩, 浅見 忠男, 中野 雄司: "ブラシノステロイド生合成阻害剤耐性低緑化変異体bpg2の原因遺伝子の葉緑体制御における機販

解析”, 日本農芸化学会2009年度大会, (日本農芸化学会), 福岡, 3月(2009).

(32)小松 知之,川出 洋,齊藤 知恵子,中澤美紀,松井 南,中野 明彦,辻本 雅文,夏目 雅裕,安部 浩,浅見 忠男,中野 雄司: “ブラシノステロイド生合成阻害剤Brz耐性低緑化変異体bpg2の原因遺伝子の葉緑体制御における機転解析”, 日本農薬学会第34回大会, (日本農薬学会), 東京, 3月(2009).

(33)山上 あゆみ,吉澤 江里子,齊藤 知恵子,中澤美紀,松井 南,作田 正明,中野 明彦,辻本 雅文,浅見 忠男,中野 雄司: “ブラシノステロイド情報伝達因子BIL4の細胞伸長における機転解析”, 第50回日本植物生理学会年会, (日本植物生理学会), 名古屋, 3月(2009).

(34)小松 知之,川出 洋,齊藤 知恵子,中澤美紀,松井 南,中野 明彦,辻本 雅文,夏目 雅裕,安部 浩,浅見 忠男,中野 雄司: “ブラシノステロイド情報伝達突然変異体bpg2の原因遺伝子の葉緑体制御における機転解析”, 第50回日本植物生理学会年会, (日本植物生理学会), 名古屋, 3月(2009).

(35)山上 あゆみ,吉澤 江里子,齊藤 知恵子,中澤美紀,松井 南,作田 正明,中野 明彦,辻本 雅文,浅見 忠男,中野 雄司: “ブラシノステロイド生合成阻害剤Brzに耐性を示す突然変異体bil3、bil4の解析”, 日本農芸化学会2009年度大会, (日本農芸化学会), 福岡市, 3月(2009).

(36)台信 友子,齊藤 知恵子,上田 貴志,中野明彦: “シロイヌナズナの雄性配偶体における小胞輸送制御因子RHA1, ARA7の機転解析”, 第50回日本植物生理学会年会, (日本植物生理学会), 名古屋, 3月(2009).

(37)恵良 厚子,海老根 一生,石崎 公庸,富永基樹,齊藤 知恵子,大和 勝幸,中野 明彦,河内 孝之: “ゼニゴケにおけるアクチン繊維のユニークな動き”, 第50回日本植物生理学会年会, (日本植物生理学会), 名古屋, 3月(2009).

(38)浜村 有希,齊藤 知恵子,金岡 雅浩,佐々木 成江,東山 哲也: “ライブイメージングにおよる重複受精機転解析”, 第50回日本植物生理学会年会, (日本植物生理学会), 名古屋, 3月(2009).

(39)植村 知博,海老根 一生,岡谷 祐哉,矢野大輔,森田 (寺尾)美代,齊藤 知恵子,上田 貴志,中野 明彦: “液胞輸送経路で機転するAtVAM3とAtPEP12は互いの機転交代できる”, 第50回日本植物生理学会年会, (日本植物生理学会), 名古屋, 3月(2009).

(40)富永 基樹,安部 弘,齊藤 知恵子,庄田 恵子,粟井 千絵,植村 知博,上田 貴志,中野明彦: “膜交通機転における植物特異的ミオシンVIIIとXIの機能”, 第50回日本植物生理学会年会, (日本植物生理学会), 名古屋, 3月(2009).

〔図書〕(計1件)

Saito, C., and Ueda, T. Functions of RAB and SNARE proteins in plant life. *International Review of Cell and Molecular Biology* **274**, 183-233, (2009).

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

齊藤 知恵子 (SAITO CHIEKO)

独立行政法人理化学研究所・

中野生体膜研究室・専任研究員

研究者番号: 10321762