

令和 4 年 6 月 14 日現在

機関番号：63801

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02469

研究課題名(和文)細胞内空間情報の構築原理の解明

研究課題名(英文)Principle of plant cell morphogenesis

研究代表者

小田 祥久(Oda, Yoshihisa)

国立遺伝学研究所・遺伝形質研究系・教授

研究者番号：30583257

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では植物の道管をモデルとして植物細胞が機能的な細胞壁を作り出す分子的・論理的な仕組みを研究しました。その結果、低分子量Gタンパク質ROPが拡散と反応の繰り返しから自己組織的に細胞壁のパターンを作り出すこと、さらにその下流で細胞壁の沈着を局所的に促進する新規のシグナル経路がはたしていることを明らかにしました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

細胞壁の沈着パターンの制御は道管に限らず、さまざまな植物細胞の機能に欠かせない現象です。本研究の知見は植物細胞が組織特異的な細胞壁パターンを構築して個体発生を実行する仕組みの理解に繋がります。さらに、この知見を応用することで、有用植物の生育の改善や木質バイオマスの増産、有効利用につながる可能性があります。

研究成果の概要(英文)：In this project, I investigated the molecular and logical mechanism of microtubule and cell wall patterning in xylem vessels, in which cell walls are deposited in highly ordered patterns. I revealed that ROP G proteins self-organize the domain patterns of active ROPs. I also found that the novel signaling pathway that promotes local deposition of cell walls at the edge of pits where ROPs are activated.

研究分野：植物科学

キーワード：細胞骨格 細胞壁

1. 研究開始当初の背景

生物の発生は細胞が分裂し、形を変え、機能を獲得してゆくことにより成立します。植物において細胞の形態と機能は細胞壁、特にその主成分であるセルロース微繊維の沈着パターンが大きく影響します。セルロース微繊維は細胞膜上のセルロース合成酵素複合体によって合成され、セルロース合成酵素複合体の軌道は細胞膜直下に並ぶ表層微小管により制御されています。セルロース合成酵素と表層微小管をつなぐ因子も発見され、表層微小管の重要性は一層確かなものとなりました。一方、表層微小管の配向に関しては表層微小管同士の相互作用による自己組織化が重要であると考えられていますが、組織特異的に起こる多様な表層微小管の配向を制御する仕組みはそれだけでは不十分な状況でした。

表層微小管の配向を制御する因子として様々な微小管結合タンパク質や低分子量 G タンパク質等の因子が同定されています。しかしこれでも多様な表層微小管の配向を説明することは困難です。ここでは、表層微小管の状態を決定する空間的な情報がいかにして作り出され、どのようにして微小管の挙動が制御されるのかという一連の知見が必要です。

反応拡散モデルは空間的に均一な状態から自発的にパターンを作り出す理論の一つです。動植物の組織や器官の形態形成においては反応拡散モデルに類似した振舞いが観察され、その背景にある分子的な仕組みの一端が明らかにされた例も報告されています。一方で細胞壁や表層微小管と言った細胞レベルでのパターン形成において反応拡散モデルのような理論的な枠組みを取り入れた分子的な研究はほとんどなされていませんでした。

2. 研究の目的

木部道管の細胞は環状、螺旋状、網目状、孔紋状といった様々な規則的なパターンに二次細胞壁を沈着します。これらの細胞壁パターンは道管が水を効率よく植物体に隅々まで輸送する上で重要な構造です。これらの細胞壁パターンは表層微小管が対応するパターンに編成されることにより導かれます。本研究ではこの木部道管分化における細胞壁パターンの構築をモデルとして、表層微小管の制御を介して細胞壁パターンを決定する仕組みを解明することを目的としました。後生木部道管では、壁孔と呼ばれる数ミクロンの大きさの、二次細胞壁が沈着されない領域が秩序立ったパターンで形成されます。この壁孔は低分子量 G タンパク質 ROP が局所的に活性化し微小管を脱重合することで形成されます。そこでまず壁孔の密度や大きさ、形状を制御する ROP 関連因子の同定とその動作の論理的な枠組みを明らかにすることを目指しました。次に ROP の下流で壁孔の立体的な構造を作り出す分子の同定とその機能解析を試みました。

3. 研究の方法

- (1) 変異体解析および構成的実験、数理解析を組み合わせ細胞壁パターン形成の理論的な枠組みの理解を目指しました。ROP 制御因子の変異体の道管の二次細胞壁パターンを解析したほか、タバコの葉の表皮を用いて局所的に ROP を活性化させる構成生物学的な実験系を用いて、パターンと各制御因子の発現量との関連を調べました。さらに ROP の反応系の数理モデルを構築し、パターン形成に必要なネットワークの構造を推定しました。このネットワーク構造を実験的に検証することを試みました。
- (2) 後生木部道管の遺伝子発現情報を用いて、逆遺伝学的に細胞壁の沈着パターンに関わる制御因子を同定することを検討しました。遺伝子発現情報にはシロイヌナズナ培養細胞を用いて後生木部道管の分化を誘導して取得した RNAseq データ、および公開されている発現データを用いました。候補遺伝子のスクリーニングにはシロイヌナズナ培養細胞を用いた後生木部道管の分化誘導法を用い、GFP を融合した候補遺伝子を発現させ、細胞壁のパターンと関連のある細胞内局在を示すものを探索しました。

4. 研究成果

(1) ROP の働きは活性化因子 GEF および不活性化因子 GAP により調節されます。各遺伝子ファミリーの変異体解析から、道管の ROP の働きを調節する制御因子として ROPGEF4 および ROPGEF7、ROPGAP3 および ROPGAP4 を同定しました。これらの ROPGEF の変異体では壁孔の数が減少し、壁孔のサイズも小さくなりました。一方 GAP の変異体では壁孔の数が減少し、壁孔のサイズは大きくなりました。

ROPGAP の過剰発現体では壁孔の数が増加し、サイズは小さくなりました。これらの道管では細胞内の ROPGEF タンパク質および ROPGAP タンパク質の量に連動して細胞膜上で ROP が活性化するスポットの数が変わっていました。タバコの葉において ROP と共にこれらの GEF, GAP を発現させたところ、局所的に ROP が活性化したドメインの数がこれらの発現量に相関していました。

反応拡散モデルを用いてこれらの制御因子による ROP の活性化、および不活性化をモデル化し、活性化型 ROP のドメインの形成の可能性を検証しました。その結果、ROP の活性化と不活性化のみでは ROP を活性化することができず、活性化した ROP がさらなる ROP の活性化を促進するポジティブフィードバックと、ROPGEF が ROP の拡散を抑制する条件が必要であることが予測されました。これらの条件を実験的に検証したところ、ROPGEF 存在下で活性化型 ROP の拡散速度が低下すること、活性化型 ROP が ROPGEF に相互作用しさらなる ROP の活性化を誘導する可能性が示唆されました (図 1, Nagashima et al. 2018 Sci Rep)。

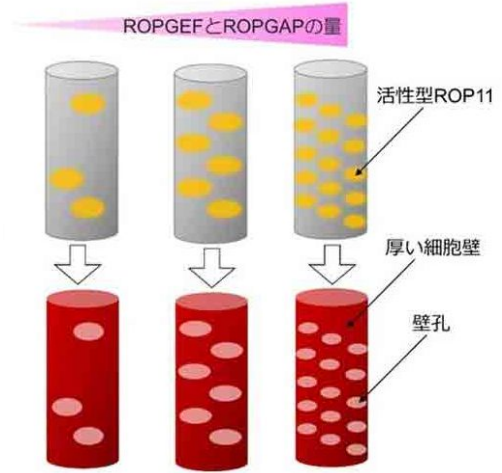


図 1. ROP による壁孔パターンの制御

(2) スクリーニングにより壁孔縁に顕著に局在する 2 つのタンパク質を発見し WAL と BDR1 と名付けました。WAL タンパク質は予想外に微小管ではなくアクチン繊維に結合し、壁孔の縁に沿ったリング状のアクチン構造をつくりだしていることが分かりました。アクチン繊維を破壊した植物や *wal* 変異体では壁孔縁での細胞壁の形成が抑制され、壁孔に形成されるアーチ形の細胞壁が不完全になりました。一方、BDR1 は WAL に相互作用し、WAL を壁孔にリクルートすることが分かりました。BDR1 および BDR1 と相同性の高い BDR2 および BDR3 の 3 重変異体を作出したところ、WAL の量が減少し、*wal* 変異体と同様に壁孔のアーチ状細胞壁の形成が不完全になりました。タバコの葉の表皮細胞に人為的に局所的に ROP を活性化させ、BDR と WAL を発現させたところ、活性化 ROP のドメインに BDR、さらには WAL が局在しました。これらの結果から、ROP が BDR と WAL、アクチン繊維を介して、おそらく微小管を安定化することにより壁孔のアーチ状細胞壁の形成を促進していると考えられます (図 2, Sugiyama et al. 2019 Nat Commun)。

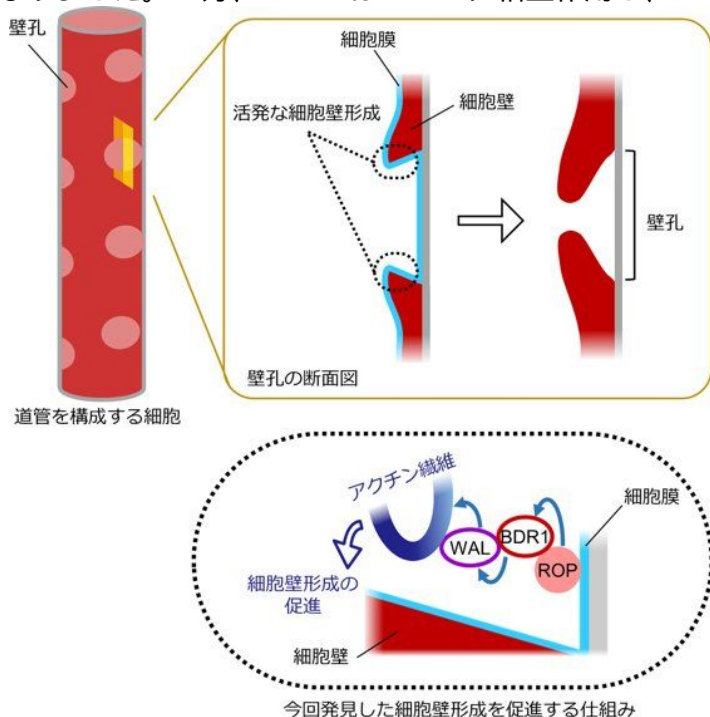


図 2. 壁孔縁の細胞壁形成の促進機構

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Gunji Shizuka, Oda Yoshihisa, Takigawa-Imamura Hisako, Tsukaya Hirokazu, Ferjani Ali	4. 巻 11
2. 論文標題 Excess Pyrophosphate Restrains Pavement Cell Morphogenesis and Alters Organ Flatness in Arabidopsis thaliana	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Plant Science	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fpls.2020.00031	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Sasaki Takema, Tsutsumi Motosuke, Otomo Kohei, Murata Takashi, Yagi Noriyoshi, Nakamura Masayoshi, Nemoto Tomomi, Hasebe Mitsuyasu, Oda Yoshihisa	4. 巻 29
2. 論文標題 A Novel Katanin-Tethering Machinery Accelerates Cytokinesis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Current Biology	6. 最初と最後の頁 4060 ~ 4070
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.cub.2019.09.049	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Sugiyama Y, Nagashima Y, Wakazaki M, Sato M, Toyooka K, Fukuda H, Oda Y	4. 巻 10
2. 論文標題 A Rho-actin signaling pathway shapes cell wall boundaries in Arabidopsis xylem vessels	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nat Commun	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-019-08396-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Fujimoto M, Sazuka T, Oda Y, Kawahigashi H, Wu J, Takanashi H, Ohnishi T, Yoneda JI, Ishimori M, Kajiyama-Kanegae H, Hibara KI, Ishizuna F, Ebine K, Ueda T, Tokunaga T, Iwata H, Matsumoto T, Kasuga S, Yonemaru JI, Tsutsumi N	4. 巻 115
2. 論文標題 Transcriptional switch for programmed cell death in pith parenchyma of sorghum stems	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Proc Natl Acad Sci U S A.	6. 最初と最後の頁 E8783-E8792
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1073/pnas.1807501115	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nagashima Y, Tsugawa S, Mochizuki A, Sasaki T, Fukuda H, Oda Y	4. 巻 8
2. 論文標題 A Rho-based reaction-diffusion system governs cell wall patterning in metaxylem vessels	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Sci Rep	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-29543-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sasaki T, Oda Y	4. 巻 1992
2. 論文標題 Imaging of Developing Metaxylem Vessel Elements in Cultured Hypocotyls.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Methods Mol Biol	6. 最初と最後の頁 351-358
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-4939-9469-4_23	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

[学会発表] 計19件(うち招待講演 9件/うち国際学会 2件)

1. 発表者名 小田祥久
2. 発表標題 道管イメージングから迫る細胞内秩序形成
3. 学会等名 日本遺伝学会(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 杉山友希, 長島慶宜, 若崎真由美, 佐藤繭子, 豊岡公德, 福田裕穂, 小田祥久
2. 発表標題 細胞壁の非対称性を生み出す分子システム
3. 学会等名 日本植物学会第83回大会(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐々木武馬, 堤元佐, 大友康平, 村田隆, 中村匡良, 根本知己, 長谷部光泰, 小田祥久
2. 発表標題 微小管付随タンパク質CORDにより制御されるフラグモプラストの動態
3. 学会等名 日本植物学会第83回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小田祥久
2. 発表標題 道管分化にみる細胞内秩序の構築機構
3. 学会等名 植物科学シンポジウム2019「SDGsに向けた植物科学の展開」(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小田 祥久
2. 発表標題 植物の道管における細胞壁パターンの構築機構
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会(招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 貴嶋紗久, 光田展隆, 上田太郎, 小田祥久
2. 発表標題 アクチン・微小管相互作用の理解に向けたシロイヌナズナvegetativeアクチンアイソフォーム変異株の表現型解析
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yoshihisa Oda
2. 発表標題 Molecular basis of cell wall patterning in xylem vessels
3. 学会等名 From cellular dynamics to morphology (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 貴嶋紗久, 光田展隆, 小田祥久
2. 発表標題 シロイヌナズナvegetativeアクチン変異株の表現型解析
3. 学会等名 第62回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐々木武馬, 小田祥久
2. 発表標題 PF-049新規ゴルジ局在タンパク質HOPIはカロースの蓄積制御を介し細胞板の形成に寄与する
3. 学会等名 第62回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yoshihisa Oda
2. 発表標題 Secondary cell wall patterning in meaxylem vessels
3. 学会等名 1st PSC Advanced Microscopic Imaging Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takema Sasaki, Hiroo Fukuda, Yoshihisa Oda
2. 発表標題 A novel microtubule-associated protein, CORTICAL MICROTUBULE DISORDERING1 (CORD1), regulates the cell-wall structure of xylem vessels
3. 学会等名 Gordon Research Conference-Plant and Microbial Cytoskeleton- (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 杉山友希, 長島慶宜, 若崎真由美, 佐藤繭子, 豊岡公德, 福田裕穂, 小田祥久
2. 発表標題 二次細胞壁の形成を制御する新規アクチンシグナル経路の解析
3. 学会等名 日本植物学会第82回年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 長島慶宜, 杉山友希, 福田裕穂, 小田祥久
2. 発表標題 道管における新規ROP-アクチン経路の解析
3. 学会等名 日本植物学会第82回年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐々木武馬, 村田隆, 長谷部光泰, 小田祥久
2. 発表標題 微小管付随タンパク質CORDの細胞分裂における機能
3. 学会等名 日本植物学会第82回年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小田祥久
2. 発表標題 2光子共焦点顕微鏡による植物組織イメージング
3. 学会等名 多次元生細胞イメージング研究会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小田祥久
2. 発表標題 細胞壁パターン形成
3. 学会等名 第九回定量生物学の会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 新規 - ROP アクチン経路による二次細胞壁沈着の制御
2. 発表標題 杉山友希, 長島慶宜, 若崎真由美, 佐藤繭子, 豊岡公德, 福田裕穂, 小田祥久
3. 学会等名 第60回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐々木武馬, 村田隆, 大友康平, 堤元佐, 根本知己, 長谷部光泰, 小田祥久
2. 発表標題 微小管付随タンパク質CORD は細胞分裂におけるフラグモプラストの形成に必要である
3. 学会等名 第60回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小田祥久
2. 発表標題 道管イメージングから迫る細胞内秩序形成
3. 学会等名 日本遺伝学会（招待講演）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------