

研究種目：基盤研究（B）
 研究期間：2007～2009
 課題番号：19370014
 研究課題名（和文） 組織形成に関わる細胞壁タンパク質のアポプラスト内での機能調節と移行制御
 研究課題名（英文） Regulation apoplastic transport of cell wall proteins involved in tissue formation
 研究代表者
 西谷 和彦 （NISHITANI KAZUHIKO）
 東北大学・大学院生命科学研究科・教授
 研究者番号：60164555

研究成果の概要（和文）：

植物の器官形成過程における細胞壁の構築・再編過程では、タンパク質のアポプラスト内の移行制御が重要な制御ポイントであるが、そのメカニズムは未解明である。本研究では、シロイヌナズナ芽生えの根のアポプラスト中に分泌される細胞壁タンパク質の動態をプロテオーム解析の手法により探索した。その結果、細胞壁中に分泌された後、修飾状態の異なるアイソザイムとして存在するタンパク質としてペプチダーゼ CIA ファミリーに属するシステインプロテアーゼ遺伝子群を同定した。

研究成果の概要（英文）：

Protein traffic in apoplast has been considered to play central role in controlling cell wall remodeling during plant morphogenesis, but is still unknown. We have performed a proteomic analysis to investigate changed in protein modification in apoplastic proteins secreted from Arabidopsis root. We have identified several genes encoding peptidase CIA family of proteins, whose isozyme patterns change during root differentiation processes.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	4,400,000	1,320,000	5,720,000
2008年度	4,600,000	1,380,000	5,980,000
2009年度	4,600,000	1,380,000	5,980,000
年度			
年度			
総計	13,600,000	4,080,000	17,680,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・植物生理・分子

キーワード：植物、細胞壁、タンパク質、アポプラスト、輸送

1. 研究開始当初の背景

植物の成長や分化の制御に於いて細胞壁の構築・再編過程は中心的な役割を担う。この過程には数千を超える細胞壁関連タンパク質群の協調した機能を介して発揮されると考えられる、その分子過程は未だ多く不明である。特に、細胞壁中に分泌されたタンパク質のアポプラスト内での動態についての知見は極めて乏しい。代表者は、これまでの研

究で、シロイヌナズナの道管機能と細胞伸長においてそれぞれ必須の役割を担うある種の細胞壁タンパク質の機能が分泌後の修飾および細胞壁中の移行/局在の過程を介して制御されていることを示唆する結果を得ていた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、上記の知見を手がかりにして、細胞壁中に分泌されるタンパク質のアポプラスト内での動態および修飾を指標にして、その移行制御に関わる分子を同定し、細胞壁中でのタンパク質 Trafficking の分子過程を解剖することである。

3. 研究の方法

植物の形態形成の制御に於いて中心的役割を担う細胞壁の構築・再編過程でのタンパク質移行/局在の過程制御に関与する制御因子の特定を目指し、本研究ではその制御の標的となる細胞壁タンパク質の同定を目指した。そのために、シロイヌナズナ芽生えの根の分化の過程に焦点をあて、細胞分化に伴うアポプラストタンパク質の網羅的解析をプロテオームの手法で進めた。

すなわち、MS 培地上で成育させたシロイヌナズナの芽生えより根を切り取り、カルス化培地に移し、カルス化の過程を追って、アポプラストタンパク質を遠心法により採取し、二次元電気泳動と MALDI-TOF MS 法によりタンパク質の同定および、修飾プロファイルを網羅的に解析した。

4. 研究成果

その結果、細胞壁中に分泌された後、修飾状態の異なるアイソザイムとして存在するタンパク質としてペプチダーゼ C1A ファミリーに属するシステインプロテアーゼ遺伝子群を同定した。このタンパク質ファミリーはシロイヌナズナでは 32 のメンバーより構成され、そのうち 9 遺伝子は根の細胞壁中に分泌されていることを見出していた。このタンパク質ファミリーの二次元電気泳動パターンの変化より、シロイヌナズナの根の脱分化誘導前後で、メンバーの中に、発現強度や修飾や分子量の変化するものがあることを見出した。本年度は、更に二次元電気泳動パターン上で同様の挙動を示すタンパク質の中には、ペプチダーゼ C1A ファミリー以外にも、タンパク質を基質とする酵素と推定されるタンパク質機能を持つものや、タンパク質間相互作用に関わると推定されるドメインを持つタンパク質が多数含まれることを明らかにした。

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 8 件)

- (1) Tominaga-Wada, R., Iwata, M., Sugiyama, J., Kotake, T., Ishida, T., Yokoyama, R., Nishitani, K., Okada, K., Wada, T. (2009) The GLABRA2

homeodomain protein directly regulates CESA5 and XTH17 gene expression in Arabidopsis roots. *Plant J.* 60: 564-574 査読有

- (2) Koizumi, K., Yokoyama, R., Nishitani, K. (2009) Mechanical load induces upregulation of transcripts for a set of genes implicated in secondary wall formation in the supporting tissue of Arabidopsis thaliana. *J Plant Res.* 122: 651-659 査読有
- (3) Kamada, M., Omori, K., Yokoyama, R., Nishitani, K., Hoson, T., Shimazu, T., Noriaki, I. (2009) Preparation and outline of space-based studies on gravity responses and cell wall formation in plants. *Biol. Sci. Space* 23: 115-120. 査読有
- (4) Nishitani, K., Yokoyama, R., Koizumi, K. (2009) Cell wall-related genes involved in supporting tissue formation and transcriptional regulation in Arabidopsis thaliana. *Biol. Sci. Space* 23: 121-130. 査読有
- (5) Kamada, M., Omori, K., Nishitani, K., Hoson, T., Takeoka, H., Shimazu, T., Yoda, S., Ishioka, N. (2009) Germination and growth test in four strains of Arabidopsis thaliana in the reference model of european modular cultivation system. *JASMA* 26: 249-254. 査読有
- (6) Kurasawa, K., Matsui, A., Yokoyama, R., Kuriyama, T., Yoshizumi, T., Matsui, M., Suwabe, K., Watanabe, M., Nishitani, K. (2009) The AtXT H28 Gene, a Xyloglucan Endotransglucosylase/Hydrolase, is Involved in Automatic Self-Pollination in Arabidopsis thaliana. *Plant and Cell Physiology* 50: 413-422. 査読有
- (7) Koizumi, K., Yokoyama, R., Kamada, M., Omori, K., Ishioka, N., Takeoka, H., Shimazu, T., Nishitani, K. (2007) Reverse genetic approach to exploring genes responsible for cell-wall dynamics in supporting tissues of Arabidopsis thaliana under microgravity conditions. *Biol. Sci. Space* 21: 48-55. 査読有
- (8) Kamada, M., Omori, K., Nishitani, K., Hoson, T., Shimazu, T., Ishioka, N. (2007) JAXA Space plant research on the ISS with European modular cultivation system. *Biol. Sci. Space* 21: 62-66. 査読有

〔学会発表〕(計33件)

- (1) 荒井(三王)裕見子, 井田仁, 吉永悟志, 石丸努, 高井俊之, 前田英郎, 西谷和彦, 寺島義文, 我有満, 渡辺好昭, 近藤始彦 イネ科作物の細胞壁成分の作物間・品種間変異 日本作物学会第229回講演会, 宇都宮大学 2010年3月30~31日
- (2) Pitaksaringkarn W, Asahina M, Azuma K, Yamazaki T, Ohme-Takagi M, Mitsuda N, Yokoyama R, Nishitani K, Satoh S Analysis of the genes for transcription factor and cell wall metabolism in reunion process of *Arabidopsis* flowering stem 第51回日本植物生理学会年会, 2010年3月18~21日 熊本大学
- (3) 山本剛史, 古川純, 中村敦子, 岩井宏暁, 石井忠, 馬建鋒, 横山隆亮, 西谷和彦, 佐藤忍, イネ細胞壁においてケイ素が細胞壁多糖類の糖組成に与える影響 第51回日本植物生理学会年会, 2010年3月18~21日 熊本大学
- (4) 佐藤淳也, 中村敦子, 古川純, 横山隆亮, 西谷和彦, 石井忠, 佐藤忍, 岩井宏暁 ポリガラクトンナーゼ遺伝子を過剰発現させたイネの表現型解析 第51回日本植物生理学会年会, 2010年3月18~21日 熊本大学
- (5) 中村敦子, 古川純, 横山隆亮, 西谷和彦, 石井忠, 佐藤忍, 岩井宏暁 細胞壁マトリックス多糖分解酵素遺伝子を過剰発現させたイネの解析 第51回日本植物生理学会年会, 2010年3月18~21日 熊本大学
- (6) 本郷祥子, 佐藤香梨, 横山隆亮, 西谷和彦 シロイヌナズナ花茎形成におけるペクチンメチルエステラーゼ(PME)の役割 第51回日本植物生理学会年会, 2010年3月18~21日 熊本大学
- (7) 佐々木大樹, 原吉直, 上垣陽平, 斎藤圭, 横山隆亮, 西谷和彦 陸上植物におけるエンド型キシログルカン転移酵素/加水分解酵素(XTH)の機能解析 第51回日本植物生理学会年会, 2010年3月18~21日 熊本大学
- (8) 原吉直, 堀江佐知子, 宮崎豪, 横山隆亮, 西谷和彦 セルロース系エタノール生産を目指したイネ細胞壁グルカン類の改変 第32回日本分子生物学会年会 2009年12月9日~12日 パシフィコ横浜
- (9) 横山隆亮, 上垣陽平, 原田太郎, 日渡祐二, 長谷部光泰, 西谷和彦 種子植物とコケ植物のエンド型転移酵素/加水分解酵素(XTH)遺伝子ファミリーの比較解析 第32回日本分子生物学会年会 2009年12月9~12日 パシフィコ横浜
- (10) 田口和憲, 岡崎和之, 西谷和彦, 阿部英幸 テンサイの根表皮におけるリグニン含量と根腐病抵抗性について 平成21年度 日本育種学会・日本作物学会北海道談話会年次講演会 2009年12月5日 北海道大学
- (11) Sato K, Yokoyama R, Nishitani K Role of a pectin methylesterase in shoot formation 9th IPMB Congress October 25-30, 2009 America's Center St.Louis
- (12) Hara Y, Yokoyama R, Nishitani K Functional analysis of a rice xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase (XTH) 9th IPMB Congress October 25-30, 2009 America's Center St.Louis
- (13) 小泉健人, 横山隆亮, 西谷和彦 荷重シグナルにより制御される支持組織の構築過程 日本植物学会第73回大会, 2009年9月18~20日 山形大学
- (14) 佐藤香梨, 横山隆亮, 西谷和彦 シロイヌナズナの花茎支持組織形成におけるペクチンメチルエステラーゼの機能 日本植物学会第73回大会, 2009年9月18~20日 山形大学
- (15) Yokoyama R, Sato K, Koizumi K, Nogami M, Nishitani K Functional analyses of cell wall genes involved in physical properties of supportive tissue in the *Arabidopsis* stem. The 20th International Conference on *Arabidopsis* Research June 30-July 4 2009 Edinburgh International Conference Centre
- (16) 近藤始彦, 三王(荒井)裕見子, 前田英郎, 石丸努, 吉永悟志, 寺島義文, 我有満, 西谷和彦 イネ, ソルガム, サトウキビの茎葉部炭素成分の品種間変異 日本作物学会第227回講演会, 2009年3月27~28日 つくば国際会議場エポカルフくば
- (17) 原吉直, 横山隆亮, 西谷和彦 イネのエンド型キシログルカン転移酵素/加水分解酵素(XTH)の機能解析 第50回日本植物生理学会年会 2009年3月21~24日 名古屋大学
- (18) 佐藤香梨, 横山隆亮, 西谷和彦 シロイヌナズナの花茎形成におけるペクチンメチルエステラーゼの機能 第50回日本植物生理学会年会 2009年3月21~24日 名古屋大学
- (19) 原吉直, 横山隆亮, 西谷和彦 イネのエンド型キシログルカン転移酵素/加水分解酵素(XTH)の機能 第31回日本分子生物学会年会 2008年12月9日~12日 神戸ポートアイランド
- (20) 原田晋吾, 横山隆亮, 西谷和彦 シロイヌナズナの細胞壁関連タンパク質の分解・回収機構の解明 日本植物学会東北支部第21回福島大会 2008年12月13~14日 福島大学

- (21) 佐藤香梨、横山隆亮、西谷和彦 シロイヌナズナ花茎におけるペクチンメチルエステラーゼの機能 日本植物学会東北支部第 21 回福島大会 2008 年 12 月 13~14 日 福島大学
- (22) 小泉健人、横山隆亮、西谷和彦 シロイヌナズナの花茎支持組織構築に関わる遺伝子群の解析機能 日本植物学会東北支部第 21 回福島大会 2008 年 12 月 13~14 日 福島大学
- (23) 原吉直、横山隆亮、西谷和彦 イネのキシログルカン転移酵素/加水分解酵素(XTH)の機能解析 日本植物学会 72 回大会 2008 年 9 月 25~27 日 高知大学
- (24) 上垣陽平、横山隆亮、原田太郎、日渡祐二、長谷部光泰、西谷和彦 ヒメツリガネゴケのエンド型キシログルカン転移酵素/加水分解酵素(PpXTH)遺伝子ファミリーの解析 日本植物学会 72 回大会 2008 年 9 月 25~27 日 高知大学
- (25) 横山隆亮、西谷和彦 陸上植物の細胞壁機能の進化第 49 回日本植物生理学会年会、シンポジウム「植物細胞の内骨格と外骨格」2008 年 3 月 20~22 日 札幌コンベンションセンター
- (26) NISHITANI K, YOKOYAMA R, OSATO Y MATSUI A, KURASAWA K, HARA Y, UWAGAKI Y, Cell-type specific roles for members of the XTH family of proteins in plants 国際シンポジウム「Frontier in Plant Proteome Research」2008 年 3 月 10 日~11 日 つくば農林ホール
- (27) 小泉健人、横山隆亮、鎌田源司、大森克徳、石岡憲昭、嶋津徹、西谷和彦 シロイヌナズナの支持組織形成に関わる遺伝子機能解明を目指した宇宙実験, Cell Wall 第 24 回宇宙利用シンポジウム 2008 年 1 月 17 日~18 日 日本科学未来館
- (28) 横山隆亮、原田太郎、西谷和彦 陸上植物のエンド型キシログルカン転移酵素/加水分解酵素遺伝子ファミリーの比較解析 第 30 回日本分子生物学会年会 2007 年 12 月 10 日~14 日 パシフィコ横浜
- (29) 野上三貴、小泉健人、横山隆亮、西谷和彦 シロイヌナズナの花茎形成における細胞壁関連遺伝子群の包括的な機能解析 第 30 回日本分子生物学会年会 2007 年 12 月 10 日~14 日 パシフィコ横浜
- (30) Hara, Y., Yokoyama, R., Nishitani, K., Ishizawa, K. A role of plasma membrane H⁺-ATP in anoxic tolerance of pondweed turions. 9th Conference of the International Society for Plant Anaerobiosis 18th-23rd November, 2007 松島
- (31) 横山隆亮、西谷和彦 花茎の形態形成と細胞壁関連遺伝子 日本植物学会 71 回大会 2007 年 9 月 6~9 日 東京理科大学
- (32) Osato, Y., Matsui, A., Kurasawa, K., Yokoyama, R., Nishitani, K. Cell-type specific roles for XTH family of proteins. XI Cell Wall Meeting 2007 年 8 月 12 日~17 日 Copenhagen
- (33) Yokoyama, R., Nishitani, K. Functional analyses of an Arabidopsis cell wall genes involved in physical properties of xylem cell wall proteins. XI Cell Wall Meeting 2007 年 8 月 12 日~17 日 Copenhagen

〔図書〕(計 2 件)

(1) 駒嶺穆、西谷和彦、他、朝倉書店 「植物ゲノム科学辞典」2009、p142-p142

(2) 石井龍、西谷和彦、他 朝倉書店 「植物の百科事典」2009、p11-p11

〔その他〕

ホームページ等

http://www.biology.tohoku.ac.jp/lab-www/nishitani_lab/

6. 研究組織

(1) 研究代表者

西谷 和彦 (NISHITANI KAZUHIKO)

東北大学・大学院生命科学研究科・教授

研究者番号：60164555

(2) 研究分担者

横山 隆亮 (YOKOYAMA RYUSUKE)

東北大学・大学院生命科学研究科・講師

研究者番号：90302083