

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2008

課題番号：19570030

研究課題名（和文） 組織分化における細胞壁構造タンパク質の細胞間輸送と機能の解明

研究課題名（英文） Functional analyses of cell-wall structural proteins required for cell differentiation

研究代表者

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

研究成果の概要：シロイヌナズナの花茎基部で高発現している構造タンパク質として同定されたグリシンリッチタンパク質（GRP）遺伝子の細胞レベルでの発現様式とタンパク質の局在を解析した。GRP 遺伝子の発現は、花茎基部においては1次木部の柔細胞に限定されている一方で、組織免疫学的手法を用いたタンパク質の局在解析によって、GRP タンパク質が1次木部の管状要素の細胞壁に蓄積していることを明らかにした。こうして GRP が柔細胞で生産された後、管状要素の細胞壁に輸送されていることを証明した。また、GRP 遺伝子の発現は、花茎上部からの荷重を軽減すると減少して、逆に花茎上部の荷重を増やすと増加することを明らかにした。この遺伝子発現の増減のパターンは、花茎で荷重を感知して、細胞壁の肥厚や硬化を調節する細胞壁関連遺伝子群の発現パターンと一致した。この事実は、植物が荷重を感知して支持組織を形成する際に、荷重を支えるために細胞壁強度を上げるだけでなく、固い組織の中でも柔軟性を必要とする管状要素の機能を維持できるように、GRP が管状要素の細胞壁で機能していることを示す結果となった。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2008年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・植物分子生物・生理学

キーワード：細胞壁、構造タンパク質、維管束

1. 研究開始当初の背景

シロイヌナズナの花茎基部では、成長を続ける花茎上部の器官や自身の重みを支えるために、植物の骨として細胞壁が重要な役割を果たす。花茎基部の支持組織では、組織全体

の力学的な強度を高めるために、細胞壁の肥厚や硬化に関与する様々な細胞壁関連遺伝子が働くが、この中には、細胞壁構造タンパク質の一種であるグリシンリッチタンパク質（GRP）も含まれていた。植物における構

造タンパク質の機能は、未だ解明されておらず、特に支持体形成における構造タンパク質についての報告は皆無であった。

2. 研究の目的

- (1) 花茎基部の支持組織において、GRP がどの細胞で作られ、どの細胞の細胞壁で働いているかを明らかにするため、GRP 遺伝子の発現している細胞、GRP タンパク質の局在部位を解析した。
- (2) また GRP と協調的に働く細胞壁関連遺伝子を明らかにして、どのような細胞壁の構築機構に GRP が関与するかを解析した。
- (3) また GRP の機能を低下させた形質転換植物を作成することによって、その機能解明を目指した。

3. 研究の方法

- (1) *in situ* ハイブリダイゼーション法によって、GRP 遺伝子の発現細胞を同定するとともに、リアルタイム RT-PCR 法を用いて、定量的に GRP 遺伝子の発現プロファイルを明らかにした。また GRP プロモーターと GUS 遺伝子を連結した融合遺伝子、及び GRP と GFP との融合遺伝子を導入した形質転換体を作成して、GRP 遺伝子の発現している細胞と GRP タンパク質の動態を観察した。また GRP タンパク質を特異的に認識する抗体を作成して、GRP タンパク質の局在部位を解析した。
- (2) マイクロアレイ法を用いて、GRP 遺伝子と協調的に働く細胞壁遺伝子の同定を試みた。
- (3) GRP 遺伝子が欠損した T-DNA 突然変異体、及び GRP RNAi 形質転換植物体を用いて、植物の支持体として花茎基部における GRP の機能解明を目指した。

4. 研究成果

- (1) GRP 遺伝子の発現は、花茎基部においては 1 次木部の柔細胞に限定されていることを明らかにした。一方で、GRP タンパク質が 1 次木部の管状要素の細胞壁に蓄積していることも明らかにして、GRP が柔細胞で生産された後、管状要素の細胞壁に輸送されていることを証明した。

- (2) GRP の発現プロファイルは、花茎で荷重を感知して、細胞壁の肥厚や硬化を調節する細胞壁関連遺伝子群の発現パターンと一致した。この事実は、植物が荷重を感知して支持組織を形成する際に、荷重を支えるために細胞壁強度を上げるだけでなく、固い組織の中でも管状要素の機能を維持できるように、GRP が、管状要素の機能を維持していると考えられた。
- (3) 実際、GRP の機能低下は、管状要素の機能に影響を及ぼしていると考えられた。こうして植物の細胞壁構造タンパク質が、細胞壁の柔軟性を保つという力学的な強度の調整に寄与するという新しい知見を得ることに成功した。

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 4 件)

- (1) Kasumi Kurasawa, Akihiro Matsui, Ryusuke Yokoyama, Tomoko Kuriyama, Takeshi Yoshizumi, Matsui Minami, Keita Suwabe, Masao Watanabe, and Kazuhiko Nishitani (2009) The AtXTH28 Gene, a Xyloglucan Endotransglucosylase/Hydrolase, is Involved in Automatic Self-Pollination in *Arabidopsis thaliana*. *Plant and Cell Physiology* 50: 413-422. 査読有
- (2) Shunsuke Saiga, Chihiro Furumizu, Ryusuke Yokoyama, Tetsuya Kurata, Shusei Sato, Tomohiko Kato, Satoshi Tabata, Mitsuhiro Suzuki, and Yoshibumi Komeda (2008) The *Arabidopsis* OBERON1 and OBERON2 genes encode plant homeodomain finger proteins and are required for apical meristem maintenance. *Development* 135: 1751-1759. 査読有
- (3) Kento Koizumi, Ryusuke Yokoyama, Motoshi Kamada, Katsunori Omori, Noriaki Ishioka, Hajime Takeoka, Toru Shimazu, Kazuhiko Nishitani (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

- (4) 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 18 件)

- (1) 横山隆亮、上垣陽平、日渡祐二、長谷部光泰、西谷和彦 ヒメツリガネゴケの新規エンド型キシログルカン転移酵素/加水分解酵素(XTH)遺伝子群の解析 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
- (2) 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
- (3) 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
- (4) 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
- (5) 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
- (6) 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
- (7) 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
- (8) 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
- (9) 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
- (10) 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
- (11) 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
- (12) 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
- (13) 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
- (14) 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
- (15) 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
- (16) 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

- (17) 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
- (18) 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 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

6. 研究組織

(1) 研究代表者

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

(2) 研究分担者

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

(3) 連携研究者