

令和 5 年 10 月 27 日現在

機関番号：82626

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K16174

研究課題名（和文）植物の多様な一次細胞壁形成を制御する転写ネットワークの解明

研究課題名（英文）Transcriptional network regulating primary cell wall formation in plant

研究代表者

坂本 真吾（Sakamoto, Shingo）

国立研究開発法人産業技術総合研究所・生命工学領域・主任研究員

研究者番号：00783664

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：植物細胞に普遍的に形成・存在している一次細胞壁を植物がどのようにその形成を制御しているかは明らかにされていない。本研究では一次壁形成を制御する転写因子群の植物のどの組織、時期、そして細胞で機能しているかを明らかにしたとともに、先述した転写因子の下流で機能する遺伝子群を新規に同定することで、形成制御ネットワークの一端を明らかにした。また本研究で注目する転写因子はプロトプラストからの細胞壁再生を制御する因子であることも明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

一次細胞壁の形成機構を明らかにすることは、植物がその「植物らしさ」をどのように制御・決定しているかを明らかにすることである。一次壁形成を制御する各々の転写因子が、それぞれ異なる組織・細胞で機能し、それら転写因子が制御する遺伝子群にも違いがあることは、細胞・組織ごとに一次細胞壁が異なっていることを表し、それがミクロ・マクロなレベルでの植物の特徴を表すものになるだろう。またプロトプラストからの細胞壁再生を制御する転写因子を明らかにした本研究は、新規培養技術の開発への展開が期待されるものであり、有用植物の開発を加速させる原動力になりうるものである。

研究成果の概要（英文）：Plant cell walls, especially primary cell walls, are a universal and fundamental cell structure in plants and have been a topic of plant research for many years. In this study, we have identified the transcription factors that regulate primary cell wall formation and their functions in plant tissues, time periods, and cells, and have identified a novel set of genes that function downstream of the transcription factors, thereby revealing part of the formation regulatory network.

研究分野：植物分子生物学

キーワード：植物細胞壁 プロトプラスト 個体再生

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

植物細胞壁は、細胞膜の外側に形成される重要な細胞構造のひとつであり、堅牢であるが柔軟性の高い性質によって細胞の外部環境からの保護とともに形態と成長方向を規定する。そして、細胞壁は植物個体の体制を決める基本的な要因となっている。植物の形態はそれぞれの種の生存戦略と密接に進化したものであり、細胞壁を正しくつくること、その植物にとってのあるべき姿を決めているといえるほど重要な細胞構造である。一般に植物細胞壁は次の二種類に大別される。すなわち、成長中の細胞でつくられるものが一次細胞壁(全細胞に普遍的に存在)であり、細胞の成長・伸長が止まったのちに特定の組織の分化した細胞機能に応じて一次細胞壁の内側につくられるものが二次細胞壁(支持組織や通水組織などを構成する一部の細胞に存在)と定義される。細胞壁形成に関与する多様な遺伝子群を同調的に制御する転写因子に焦点を当てた研究によって、二次細胞壁形成については各種マスター転写因子が同定されてきているが、一次細胞壁の形成を制御する転写因子はつい最近まで未同定であった。本研究では、申請者が独自に同定した一次細胞壁成分を形成させる ERF 転写因子群について、各々の ERF 転写因子群の機能解析と転写制御ネットワークを一つ一つ詳細に明らかにすることで、一次細胞壁形成因子が個々の細胞でどのように一次細胞壁を作り分けているかを明らかにすることができると考え研究に着手した。

2. 研究の目的

本研究では、ERF 転写因子群の植物組織・細胞における機能部位、およびその下流で機能する遺伝子群の同定、すなわち、転写ネットワークの解明をすすめることで、植物が一次細胞壁をミクロ・マクロレベルでどのように作り分け、さらには植物の形態形成・発達および生理変化についてその詳細を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

1) ERF 転写因子群の nst1 nst3 変異体での繊維細胞特異的発現株の解析

繊維細胞の二次壁形成能が欠損した nst1 nst3 変異体に、繊維細胞特異的に一次壁形成制御因子である ERF 転写因子群を発現させ、繊維細胞で形成される細胞壁の成分分析、およびトランスクリプトーム解析を行った。

2) ERF 転写因子群の一過的過剰発現シロイヌナズナ葉肉細胞プロトプラストの解析

プロトプラストにおいて、ERF 転写因子群を一過的に過剰発現させたのち、細胞壁再生培地で培養した際に再生する細胞壁の成分分析、および、トランスクリプトーム解析を行った

3) 各 ERF 転写因子群のプロモーターGUS ラインの解析

シロイヌナズナ野生株において、各 ERF 転写因子群のプロモーターGUS ラインを作成し、各 ERF 転写因子が植物のどの組織において発現・機能しているかを解析した。

4) ERF 転写因子群ノックアウトもしくはドミナントネガティブにおける植物の表現型解析

ERF 転写因子群の各遺伝子におけるタグラインもしくはゲノム編集によるノックアウト体、もしくはドミナントネガティブ体 (ERF-SRDX) を作出し、それら植物における表現型を解析した。

4. 研究成果

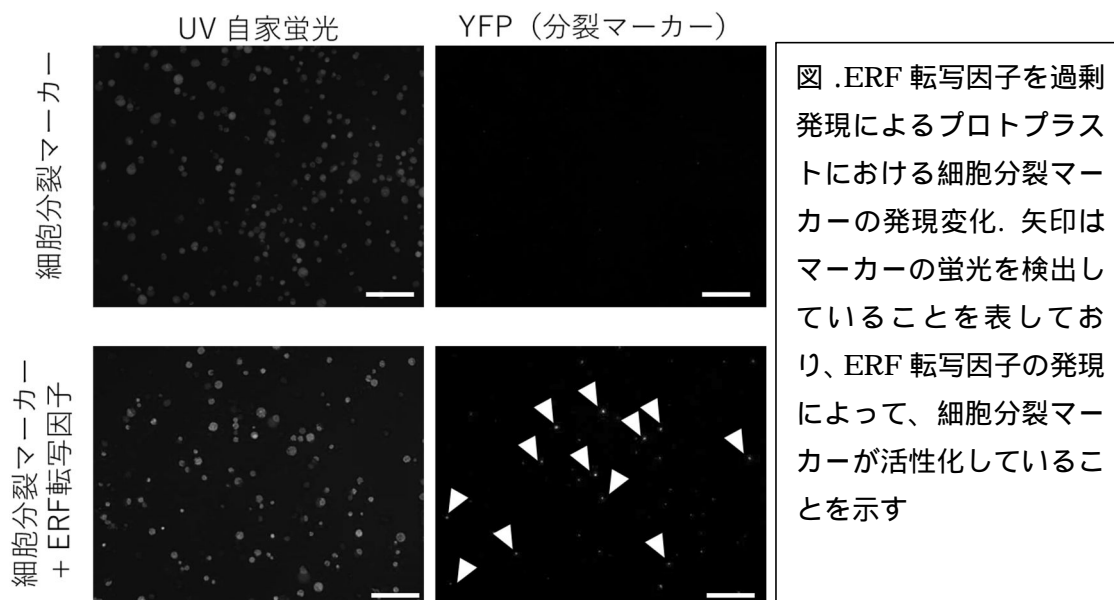
1) ERF 転写因子群の下流で機能する新規転写因子

ERF 転写因子を nst1 nst3 変異体の繊維細胞特異的に発現させた結果、各転写因子発現株ごとに細胞壁構成糖成分のうち、特にペクチンにおける成分の差異が見られた。関連する形でトランスクリプトーム解析においても、それら成分の差異に相関する形で発現が変動する遺伝子群が見出された。そのうち転写因子 A に着目して、そのノックアウト体およびドミナントネガティブ体を作成し、表現型解析を行った結果、ERF のドミナントネガティブ体と同様に、矮化する表現型がみられた。併せてその詳細解析をすすめた結果、特に根のペクチンについて成分の差異が認められ、転写因子 A は、ERF 転写因子の下流で、根のペクチンの合成・制御にかかわることが示唆された。

2) プロトプラストからの個体再生における ERF 転写因子群の機能

上述の ERF 転写因子群を発現させた nst 二重変異体について RNA-seq を行ったところ、細胞壁形成にかかわる遺伝子群が有意に発現上昇していることに加えて、細胞分裂に関わる遺伝子群も有意に発現が上昇していることを明らかにした。この結果を受けて、花茎組織の切片観察によって細胞数を計測すると、過剰発現株で細胞数が増加していた。特に維管束組織において細胞数の増加がみられ、この結果は、野生株を背景に ERF 転写因子を発現させた場合でも同様の結果

であった。そこで、プロトプラストに ERF 転写因子群を過剰発現させ、細胞壁再生とともに、細胞分裂を活性化するのかを検証すべく、細胞分裂マーカーと ERF 転写因子群をプロトプラストに同時導入し、細胞分裂マーカーの活性への影響を調べたところ、予想通り ERF 転写因子の導入によって、細胞分裂マーカーが活性化していることを見出した(図)。これらのことから、ERF 転写因子群は細胞壁再生・形成のみならず、細胞分裂も制御していることが示唆された。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4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 Yoshida Kouki, Sakamoto Shingo, Mitsuda Nobutaka	4. 巻 62
2. 論文標題 In Planta Cell Wall Engineering: From Mutants to Artificial Cell Walls	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Plant and Cell Physiology	6. 最初と最後の頁 1813 ~ 1827
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/pcp/pcab157	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 Nakata Miyuki T., Sakamoto Shingo, Nuoendagula, Kajita Shinya, Mitsuda Nobutaka	4. 巻 12
2. 論文標題 Fiber Cell-Specific Expression of the VP16-Fused Ethylene Response Factor 41 Protein Increases Biomass Yield and Alters Lignin Composition	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Plant Science	6. 最初と最後の頁 1-11
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fpls.2021.654655	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 Yoshida Kouki, Sakamoto Shingo, Mitsuda Nobutaka	4. 巻 9
2. 論文標題 Tensile Testing Assay for the Measurement of Tissue Stiffness in Arabidopsis Inflorescence Stem	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BIO-PROTOCOL	6. 最初と最後の頁 1-16
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21769/BioProtoc.3327	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 Sakamoto Shingo, Nomura Taiji, Kato Yasuo, Ogita Shinjiro, Mitsuda Nobutaka	4. 巻 39
2. 論文標題 High-transcriptional activation ability of bamboo SECONDARY WALL NAC transcription factors is derived from C-terminal domain	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Plant Biotechnology	6. 最初と最後の頁 229 ~ 240
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5511/plantbiotechnology.22.0501a	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 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Nataka M, Ezura K, Sakamoto S, Mitsuda N
2. 発表標題 Building up artificial synthetic cell walls in planta
3. 学会等名 7th International Conference on Plant Cell Wall Biology (PCWB2021) (国際学会)
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 坂本真吾、光田展隆
2. 発表標題 ERFグループ IIIId および IIIIeファミリー転写因子群の機能解析
3. 学会等名 第61回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2019年～2020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
---------	---------