

令和 6 年 5 月 31 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03271

研究課題名（和文）道管細胞の通水性制御における一次細胞壁ダイナミクスの役割の解明

研究課題名（英文）Elucidation of primary cell wall dynamics to regulate water conductivity of xylem vessel cells

研究代表者

大谷 美沙都 (Ohtani, Misato)

東京大学・大学院新領域創成科学研究科・教授

研究者番号：60435633

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,700,000 円

研究成果の概要（和文）：陸上植物にとって、水や無機塩類を輸送する道管機能制御は非常に重要である。本研究では、植物細胞の一次細胞壁に特徴的な非セルロース細胞壁多糖の道管機能制御における役割の解明を行った。その結果、道管機能制御に関わる新規の細胞壁多糖修飾酵素遺伝子を複数同定することに成功し、さらにこうした酵素は、細胞内ではなく細胞壁で機能制御を受ける可能性を突き止めた。以上は、道管における一次壁ダイナミクス制御の分子機構と重要性を新規に明らかにする意義深い成果であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

植物細胞壁に含まれる非セルロース性多糖は工業的に重要なバイオリソースであり、例えば一次壁に多く含まれるペクチンは食品工業で重用される重要多糖である。本研究で見出された新規の非セルロース性多糖修飾・分解酵素は、食品工業的新技术や次世代型バイオマテリアル開発への応用展開可能な基盤となりうる。さらに道管機能性は植物の成長を直接左右する重要な形質であり、本研究結果は作物や穀物成長制御技術開発に繋がる高い応用性を有している。

研究成果の概要（英文）：Functional regulation of xylem vessels, which transport water and inorganic salts, is important for land vascular plants. In this study, I examined the role of plant primary cell wall-specific non-cellulosic cell wall polysaccharides in the regulation of xylem vessel function. As a result, novel genes for cell wall polysaccharide modification enzyme were successfully identified as regulators of xylem vessel functions. Moreover, the possibility that these enzymes would be functionally regulated at the cell wall rather than within the cell was demonstrated. These are significant results that provide new insights into the molecular mechanisms and importance of the regulation of primary wall dynamics in functional regulation of xylem vessels.

研究分野：植物細胞生物学

キーワード：植物細胞壁 非セルロース性多糖 ペクチン 道管

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

陸上植物にとって、生存や成長に必要な水と無機塩類を確保することはきわめて重要な問題である。維管束植物はこうした問題を、水と無機塩類の輸送に特化した細胞、通水細胞を生み出すことで解決してきた (Sperry, Int J Plant Sci 2003)。既存の植物種がもつ通水細胞は、細胞サイズや細胞形態に大きな違いを有する一方で、後天的な細胞壁修飾を受ける、さらには死細胞であるという共通した特徴をもっている。こうした特徴は、細胞の通水能力の向上に関連があると考えられており、とくに仮道管や道管で見られるリグニン化した二次細胞壁の形成は、通水性を飛躍的に高め、維管束植物の巨大化と乾燥環境適応に大いに貢献したと考えられている (Sperry, Int J Plant Sci 2003; Ohtani et al., J Exp Bot 2017)。

被子植物のもつ通水細胞、道管細胞分化の分子機構については、過去 20 年ほどの間に飛躍的に理解が進んでいる。とくに道管細胞のマスター制御転写因子として、植物特異的 NAC 転写因子である VND ファミリーが同定されたことにより (Kubo et al., Gene Dev 2005)、「VND ファミリーを起点とした転写ネットワークによって、細胞壁修飾・細胞死関連酵素遺伝子の転写活性化が起こり、道管細胞分化が進行する」というモデルが提出され、道管細胞分化機構のゴールドスタンダードとして世界的に受け入れられている (図 1; Nakano et al., Front Plant Sci 2015; Ohtani and Demura, Curr Opin Biotech 2019; Kamon and Ohtani, Curr Opin Plant Biol 2021)。

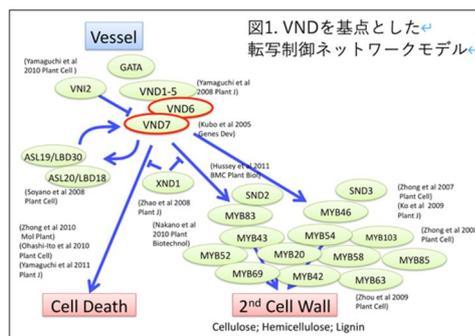


図1. VNDを基点とした転写制御ネットワークモデル

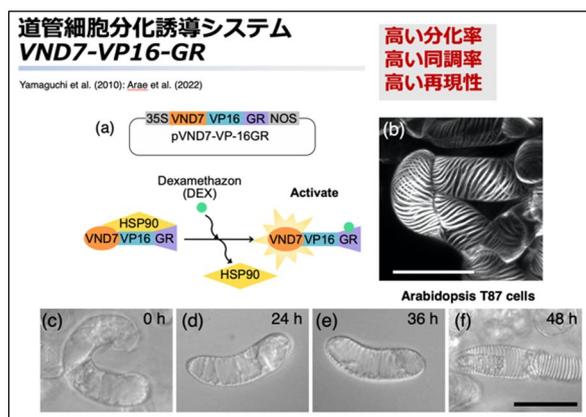
このように本研究開始時には、道管細胞分化における細胞壁修飾制御に関しては主に細胞分化誘導と同時に新規に開始される二次壁生成、すなわち二次壁型セルロースやリグニンの生成過程に注目が集まっていた。しかしながら、非セルロース細胞壁多糖、とくに一次壁に多量に含まれるペクチンが道管細胞の通水性制御にどういった役割を果たしているのかについては、ほとんど未解明であった。

2. 研究の目的

以上を背景として、本研究では、植物一次細胞壁の主要非セルロース細胞壁多糖であるペクチンに焦点をあて、「道管細胞分化におけるペクチンダイナミクスをペクチン関連タンパク質の観点から明らかにし、道管細胞の通水性制御における非セルロース性細胞壁多糖ダイナミクスの役割を解明する」ことを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 道管細胞分化に関与する新規ペクチン関連タンパク質の同定と機能解析



解析材料として、道管細胞分化率がほぼ 100% である道管細胞分化誘導系 VND7-VP16-GR を導入したシロイヌナズナ培養細胞 (左図; Yamaguchi et al., Plant Physiol 2010; Arae et al. 2022 DGD) を用い、道管細胞分化段階依存的なペクチンダイナミクス解析を行った。さらにトランスクリプトーム解析および細胞壁プロテオーム解析によって、道管細胞分化過程で発現変動するペクチン関連タンパク質の同定を行った。

加えて、同定したペクチン関連タンパク質の組換えタンパク質を作製し、タンパク質機能の生化学的評価を行った。機能が確認された遺伝子については、プロモーター

ーレポーターラインの作製を行い、植物個体内での発現解析や変異体解析を行った。

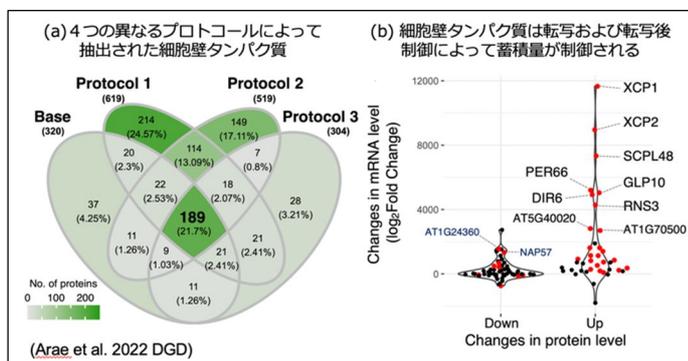
(2) 同定したペクチン関連遺伝子に関する進化発生的解析

ヒメツリゴケやテダマツにおけるホモログ遺伝子を探索し、その遺伝子構造やアミノ酸配列の保存性を検証した。とくに同定したペクチン関連遺伝子が、シロイヌナズナでは VND ファミリーの直接の転写制御ターゲットであると考えられた場合には、プロモーター領域の配列についても調べ、遺伝子制御ネットワークの進化的変遷に関する情報を収集した。

4. 研究成果

道管機能制御に関わるペクチン関連タンパク質を新規に同定するため、道管細胞分化システム VND7-VP16-GR (Yamaguchi et al., Plant Physiol 2010) を導入したシロイヌナズナ培養細胞

T87 株 (*T87/VND7-VP16-GR*) を新規に作製し、トランスクリプトーム解析および細胞壁プロテオーム解析を行った。細胞壁プロテオーム解析のためには、VND7 活性誘導によって道管細胞分化を誘導し、誘導後 36 時間目の細胞を回収、4 種類の細胞壁タンパク質抽出プロトコルを新たに準備して細胞壁画分を抽出した。得られた抽出タンパク質サンプルのショットガンプロテオーム解析を行ったところ、合計 871 種類の



タンパク質を細胞壁タンパク質として同定することに成功した (上図(a))。また、4 種類のプロトコル全てに共通して見いだされた 189 種のタンパク質のうち、誘導処理区で 34 種が有意に上昇、42 種が有意に減少しており、このうち上昇した 34 種タンパク質には、新規に同定された細胞壁タンパク質 19 種が含まれていた。この 19 種には、ペルオキシダーゼやエクспанシン、パープルホスファターゼ等が含まれており、これらはおもに転写後制御によって蓄積量が上昇する道管細胞分化関連細胞壁タンパク質である可能性が示唆された (上図(b))。さらに、道管細胞分化に従って蓄積量が上昇するペクチン関連タンパク質を新規に同定した (Arae et al., DGD 2022)。さらに同じ *T87/VND7-VP16-GR* 細胞を用いて、道管細胞分化開始後 2 時間おきのサンプルを用いたトランスクリプトーム解析を行ったところ、細胞壁プロテオーム解析で見いだされたもの以外にも、複数のペクチン関連遺伝子の発現が道管細胞分化に従って増減の様子が認められた (Uy et al., Plant Cell Physiol 2023)。以上の結果は、道管細胞分化中には転写および転写後制御によって細胞壁タンパク質が大きく変動し、とくにアポプラスト領域 (細胞壁中) では翻訳後制御 (タンパク質修飾やタンパク質分解) によって、ペクチン関連タンパク質を含む細胞壁タンパク質の質と量が積極的に制御されていることを示唆する興味深い成果であった (Arae et al., DGD 2022; Uy et al., Plant Cell Physiol 2023)。

上述の新規同定ペクチン関連遺伝子について、フランス Universite de Picardie の Pelloux 博士との共同研究によって組換えタンパク質の生化学的酵素活性評価を行ったところ、組換えタンパク質には予想通りの機能活性があることが確認された。そこでこれらペクチン関連遺伝子のシロイヌナズナプロモーターレポーターラインを作製し、発現パターンを観察した結果、これらの酵素は植物体では道管特異的に発現することも明らかとなった。さらにこのペクチン関連遺伝子の変異体は生育不良を起こし、また道管機能への影響が観察されたことから、道管機能制御において重要な機能を果たすことが分かった。

以上の新規同定酵素遺伝子に関して、ヒメツリガネゴケおよびテータマツのゲノム情報からホモログ探索を行い、ホモログ遺伝子の同定を行った。また、Yamaguchi ら (2011, Plant J) のトランスクリプトームデータを精査したところ、今回同定したペクチン関連遺伝子の一部は VND7 の直接のターゲットであることが判明したため、これらを重点的プロモーター配列解析対象として絞り込んだ。プロモーター配列解析の結果、ヒメツリガネゴケおよびテータマツのホモログ遺伝子のプロモーター配列にも VND7 シス配列と類似の配列が見つかった。

以上、本研究を通して、以下の 3 点を明らかにすることに成功した。

- (1) 道管細胞分化途中の細胞壁では、複数のペクチン関連タンパク質が積極的に機能し、一次壁のダイナミックな質的・量的変動が起きていること
- (2) 今回見いだしたペクチン関連タンパク質は、道管機能制御に重要な役割を有すること
- (3) このスキームは被子植物の道管だけではなく、コケ植物のハイドロイドや裸子植物の仮道管といった陸上植物の通水細胞に広く共通している可能性があること

これらは今まで見過ごされてきた、植物道管細胞 (通水細胞) における一次壁ダイナミクスの重要性を実験的に示すものであり、とくにペクチン動態変化が道管機能性において本質的な役割を果たしていることを世界に先駆けて解明した大きな成果であったと考えている。

< 引用文献 >

- Sperry (2003) Int J Plant Sci 164, 115-127
 Ohtani et al. (2017) J Exp Bot 68, 17-26
 Kubo et al. (2005) Gene Dev 19,1855-1860
 Nakano et al. (2015) Front Plant Sci 6, 288
 Ohtani and Demura (2019) Curr Opin Biotech 56, 82-87
 Kamon and Ohtani (2021) Curr Opin Plant Biol 64, 102135
 Yamaguchi et al. (2010) Plant Physiol 153, 906-914
 Arae et al. (2022) Dev Growth Differ 64, 5-15
 Uy et al. (2023) Plant Cell Physiol 64: 1563-1575
 Yamaguchi et al. (2011) Plant J 66, 579-590

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Kamon E, Noda C, Higaki T, Demura T, Ohtani M	4. 巻 38
2. 論文標題 Calcium signaling contributes to xylem vessel cell differentiation via post-transcriptional regulation of VND7 downstream events.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Plant Biotechnology	6. 最初と最後の頁 331-337
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5511/plantbiotechnology.21.0519a	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 Akiyoshi N, Ihara A, Matsumoto T, Takebayashi A, Hiroshima R, Kikuchi J, Demura T, Ohtani M	4. 巻 62
2. 論文標題 Functional analysis of poplar SOMBRERO-type NAC transcription factors yields strategy to modify woody cell wall properties.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Plant & Cell Physiology	6. 最初と最後の頁 1963-1974
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/pcp/pcab102.	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 Arae T, Nakakoji M, Noguchi M, Kamon E, Sano R, Demura T, Ohtani M	4. 巻 64
2. 論文標題 Plant secondary cell wall proteome analysis with an inducible system for xylem vessel cell differentiation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Development, Growth & Differentiation	6. 最初と最後の頁 5-15
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/dgd.12767	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 Hirai R, Wang S, Demura T, Ohtani M	4. 巻 12
2. 論文標題 Histone deacetylation controls xylem vessel cell differentiation via transcriptional regulation of a transcription repressor complex OFP1/4-MYB75-KNAT7-BLH6.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Plant Sciences	6. 最初と最後の頁 825810
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fpls.2021.825810	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 該当する

1. 著者名 Nakano Y, Endo H, Gerber L, Hori C, Ihara A, Sekimoto M, Matsumoto T, Kikuchi J, Ohtani M, Demura T	4. 巻 13
2. 論文標題 Enhancement of secondary cell wall formation in poplar xylem using a self-reinforced system of secondary cell wall-related transcription factors.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Plant Sciences	6. 最初と最後の頁 819360
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fpls.2022.819360	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 Kamon E, Ohtani M	4. 巻 64
2. 論文標題 Xylem vessel cell differentiation: a best model for new integrative cell biology?	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Current Opinion in Plant Biology	6. 最初と最後の頁 102135
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.pbi.2021.102135	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 Ohtani M, Kotake T, Mortimer J, Demura T	4. 巻 62
2. 論文標題 The mechanics and biology of plant cell walls: resilience and sustainability for our future society	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Plant & Cell Physiology	6. 最初と最後の頁 1787-1790
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/pcp/pcab168	査読の有無 無
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 該当する

1. 著者名 大谷美沙都	4. 巻 5
2. 論文標題 オミクス解析から解き明かす木質形成機構	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 アグリバイオ	6. 最初と最後の頁 13-17
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 Ramachandran V, Tobimatsu Y, Yamamura M, Sano R, Umezawa T, Demura T, Ohtani, M	4. 巻 104
2. 論文標題 Plant-specific Dof transcription factors VASCULAR-RELATED DOF1 and VASCULAR-RELATED DOF2 regulate vascular cell differentiation and lignin biosynthesis in Arabidopsis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Plant Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 263-281
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11103-020-01040-9	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13件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 6件)

1. 発表者名 Arae T, Nakakoji M, Noguchi M, Kamon E, Demura T, Ohtani M
2. 発表標題 Proteomic analysis of plant secondary cell wall with an inducible system for xylem vessel cell differentiation
3. 学会等名 Kyoto University / ERATO International Symposium Chemistry and Plant Biology (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Akiyoshi N, Nakano Y, Gerber L, Hori C, Kikuchi J, Demura T, Ohtani M
2. 発表標題 Engineering of lignocellulosic biomass by key transcription factors for woody cell formation
3. 学会等名 Kyoto University / ERATO International Symposium Chemistry and Plant Biology (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Ohtani M, Kawabe H, Phookaew P, Suzuki T, Ogawa Y, Akiyoshi N, Sano R, Takebayashi A, Nakagami H, Demura T
2. 発表標題 Crucial role for protein post-translational modification to regulate secondary wall formation induced by VND7.
3. 学会等名 The 7th International Conference on Plant Cell Wall Biology (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Arae T, Nakakoji M, Noguchi M, Demura T, Ohtani M
2. 発表標題 Proteomic analysis of cell wall proteins during xylem cell differentiation based on multiple protein extraction methods.
3. 学会等名 The 7th International Conference on Plant Cell Wall Biology (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Akiyoshi N, Ihara A, Matsumoto T, Takebayashi A, Hiroyama R, Kikuchi J, Demura T, Ohtani M
2. 発表標題 Functional analysis of poplar SOMBRERO-type NAC transcription factors yields strategy to modify woody cell wall properties.
3. 学会等名 The 7th International Conference on Plant Cell Wall Biology (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kamon E, Yoneda A, Tsugawa S, Ohtani M, Demura T.
2. 発表標題 Chemical biological analysis of cortical microtubule dynamics regulating secondary cell wall pattern formation.
3. 学会等名 The 7th International Conference on Plant Cell Wall Biology (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大谷美沙都
2. 発表標題 植物の細胞分化を制御する転写後遺伝子発現調節の解明
3. 学会等名 第63回日本植物生理学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 秋吉信宏、田村泰造、出村拓、大谷美沙都
2. 発表標題 通水細胞形成マスター転写因子 VNS ファミリーのシス配列結合親和性の分子的進化
3. 学会等名 第63回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 家門絵理、野田千尋、出村拓、大谷美沙都
2. 発表標題 木部道管細胞の二次細胞壁形成における細胞膜健全性の重要性
3. 学会等名 第63回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 生田風馬、秋吉信宏、野田口理孝、出村拓、大谷美沙都
2. 発表標題 道管細胞特異的ポリガラクトンナーゼ変異体が示す生育阻害と物質輸送の関連性
3. 学会等名 第85回日本植物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 秋吉 信宏、佐野 亮輔、山岸 祐介、船田 良、出村 拓、大谷 美沙都
2. 発表標題 オウシュウトウヒ培養細胞を用いた仮道管形成関連遺伝子の解析
3. 学会等名 第84回日本植物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 家門 絵理、津川 暁、米田 新、Sean Cutler、橋本 隆、大谷 美 沙都、出村 拓
2. 発表標題 二次細胞壁パターン形成を制御する表層微小管動態に関する化学生物学的解析
3. 学会等名 第84回日本植物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大谷 美沙都、Phookaew Pawittra、川邊 陽文、鈴木 崇臣、佐野 亮輔、竹林 有理佳、中神 弘史、出村 拓
2. 発表標題 シロイヌナズナ道管細胞分化マスター制御転写因子 VND7の機能調節におけるタンパク質翻訳後修飾の重要性
3. 学会等名 第84回日本植物学会年会
4. 発表年 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
研究協力者	出村 拓 (Demura Taku)	奈良先端科学技術大学院大学・CDG・教授 (14603)	
研究協力者	荒江 星拓 (Arae Toshihiro)	東京大学・新領域創成科学研究科・博士研究員 (12601)	
研究協力者	家門 絵理 (Kamon Eri)	東京大学・新領域創成科学研究科・博士研究員 (12601)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究協力者	秋吉 信宏 (Akiyoshi Nobuhiro)	東京大学・新領域創成科学研究科・博士研究員 (12601)	

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			
フランス	Universite de Picardie			
カナダ	University of British Columbia			