

令和 7 年 6 月 1 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H02514

研究課題名（和文）道管をモデルとした細胞壁グランドデザインの構築機構の研究

研究課題名（英文）Research into the mechanism of cell wall construction in xylem vessels

研究代表者

小田 祥久（Oda, Yoshihisa）

名古屋大学・理学研究科・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）：植物細胞は、それぞれの細胞ごとに特有の細胞壁パターンを形成しており、このパターンは細胞の形態や機能の決定に重要な役割を果たしている。本研究では、植物の道管をモデル系として用い、植物細胞がどのようにして細胞壁パターンを形成するのか、その仕組みの解明を試みた。その結果、転写因子KNAT7が細胞膜近傍でアクチンの重合を促進するFH11の発現を抑制することが、後生木部特有の細胞壁パターンを形成するために必要であることが判明した。この研究により、細胞壁パターンの制御には、細胞膜近傍でのアクチン重合活性の組織特異的な調節が重要であることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、細胞膜近傍におけるアクチン重合の制御が、道管における細胞壁パターンの決定に重要な役割を果たすことが明らかとなった。本成果は、細胞骨格を介した細胞壁形成の制御機構に関する新たな知見を提供し、植物細胞生物学の理解を一段と深化させるものである。また、本研究で解明された仕組みは、他の植物組織にも広く共通する可能性が高く、今後の応用研究における重要な基盤となると期待される。さらに、この知見を応用することで、道管構造を人為的に制御し、水輸送効率の高い作物や乾燥ストレスに強い植物の開発につなげることが可能である。加えて、木材やセルロースの性質を制御する技術への展開も見込まれる。

研究成果の概要（英文）：Plant cells form cell wall patterns specific to each cell type, which play a crucial role in determining cell shape and function. In this study, we used xylem vessels as a model system to investigate the mechanisms by which plant cells establish patterned cell wall deposition. Our research revealed that the transcription factor KNAT7 suppresses the expression of FH11, and this repression is essential for the formation of the characteristic pitted cell wall pattern in metaxylem vessels. FH11 localizes near the plasma membrane and promotes actin polymerization, which in turn influences the distribution of ROP GTPases and the orientation of cortical microtubules. Furthermore, the functions of the FH formin family were found to be required for the formation of ring or spiral wall patterns in protoxylem vessels. These results demonstrate that the spatial regulation of actin polymerization near the plasma membrane is a key factor in controlling cell wall patterning in plant cells.

研究分野：植物細胞生物学

キーワード：細胞骨格 細胞壁 道管

1. 研究開始当初の背景

植物の細胞は、外側を取り囲む細胞壁によって構造的に支えられ、その形状や機能が決定される。細胞壁は、セルロースをはじめとする多糖類やリグニンなどで構成され、植物の成長や外的環境への応答に関わるだけでなく、水や養分の輸送、病原体に対する防御にも重要な役割を果たしている。特に、維管束の一部を構成する道管の細胞は、成熟過程で細胞壁を肥厚し、特徴的なパターン¹の二次細胞壁を形成することで水輸送に適した構造を獲得する。道管には、発達の時期や機能に応じて異なる形態をもつ原生木部と後生木部が存在し、原生木部は環状またはらせん状、後生木部は孔紋状の細胞壁パターンを持つ。これらのパターンは、細胞死後も維持され、水の通導効率や組織の柔軟性に影響を与えられていると考えられている。これまで、細胞壁パターンの形成には細胞膜にアンカーされた表層微小管と、それに依存するセルロース合成酵素複合体の誘導が重要とされてきた。また、ROP GTPase と呼ばれる分子スイッチの局在や、微小管脱重合因子 MIDD1 のはたらきなども明らかにされてきた。しかし、原生木部と後生木部で特徴的なパターン¹の二次細胞壁を作り分ける機構について細胞学的な知見はほとんど得られていなかった。本研究は、アクチンの重合活性の制御が細胞壁パターンの決定に重要であることを明らかにし、植物の細胞壁の制御機構における新たなメカニズムを提示した(Kijima et al. 2025)。

2. 研究の目的

本研究の主たる目的は、後生木部道管における孔紋状細胞壁のパターン形成に関与する分子基盤を明らかにすることである。特に、後生木部道管の孔紋状細胞壁のパターン形成に関与する遺伝子群を制御する転写因子が何でどのようなはたらきをしているのか、それにより制御される遺伝子産物が、どのようにして後生木部道管の ROP GTPase の局在や表層微小管のパターン、さらには細胞壁パターンに影響するのかを解明することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 変異体のスクリーニングと原因遺伝子の特定

シロイヌナズナに対し EMS を用いた変異原処理を施し、道管の細胞壁パターンに異常を示す個体を顕微鏡観察でスクリーニングした。後生木部において本来は孔紋状となるべき細胞壁が、環状に変化している変異体を同定し、次世代シーケンサーによる解析によりこの変異体が *KNOTTED-LIKE HOMEBOX TRANSCRIPTION FACTOR 7 (KNAT7)* 遺伝子の変異であることを同定した。

(2) 転写制御の解析

RNA-seq 解析およびプロモーター解析により、*KNAT7* が負に制御する標的遺伝子として、*FORMIN HOMOLOG Y 11 (FH11)* を特定した。野生型と *kna7* 変異体の *FH11* の発現を比較することで、*KNAT7* が *FH11* の転写を抑制していることが明らかになった。

(3) 細胞骨格の観察

蛍光タンパクを融合した *FH11* を用い、根の木部細胞および培養細胞における局在をスピニングディスク共焦点レーザー顕微鏡を用いて観察した。*FH11* が細胞膜に局在し、アクチン繊維の形成を促進することが明らかになった。観察には植物ホルモンを用いたシロイヌナズナ胚軸の道管分化誘導系や道管の ROP GTPase と微小管の局在の異所的な再構成法も用いた。さらに、ROP GTPase と微小管マーカーとの二重蛍光イメージングを行い、*FH11* の過剰発現によりこれらの分布が大きく乱れることが判明した。*FH11* のドメイン欠損、およびスワップにより *FH11* の各ドメインの機能を解析した。

(4) 機能喪失解析と細胞壁形成の評価

CRISPR/Cas9 法を用いて *FH11* を含む複数のフォルミン遺伝子群の機能喪失変異体を作成し、原生木部道管における細胞壁構造を観察。フォルミン欠損により、原生木部特有の環状パターンが喪失し、原生木部の細胞壁パターン形成に必要であることを実証した。

4. 研究成果

(1) *KNAT7* は後生木部特異的に *FH11* を抑制

kna7 変異体では *FH11* が異所的に後生木部に発現し、細胞壁パターンが原生木部様に変化することが示された。*kna7 fh11* 変異体でこの異常は消失し、*FH11* の過剰発現により *kna7* の表現型が再現された。このことから、*KNAT7* による *FH11* の転写抑制が後生木部のパターン特異性をもたらしていることが明らかになった。

(2) *FH11* は細胞膜近傍でアクチン重合を促進

FH11 は N 末の膜貫通ドメインに依存して細胞膜に沿って局在し、*FH1-FH2* ドメインの活性に

よりアクチンの重合を促進していることがわかった。ドメイン欠損とスワップの実験により細胞膜に局在しない、あるいはアクチン重合能をもたない FH11 は木部道管の細胞壁パターンに影響しなかった。このことから細胞膜近傍でのアクチン重合が細胞壁パターンに影響を与えていることがわかった。この FH11 の活性により細胞膜直下の構造が変化し、ROP GTPase の局在や表層微小管配列が変わることが明らかとなった。

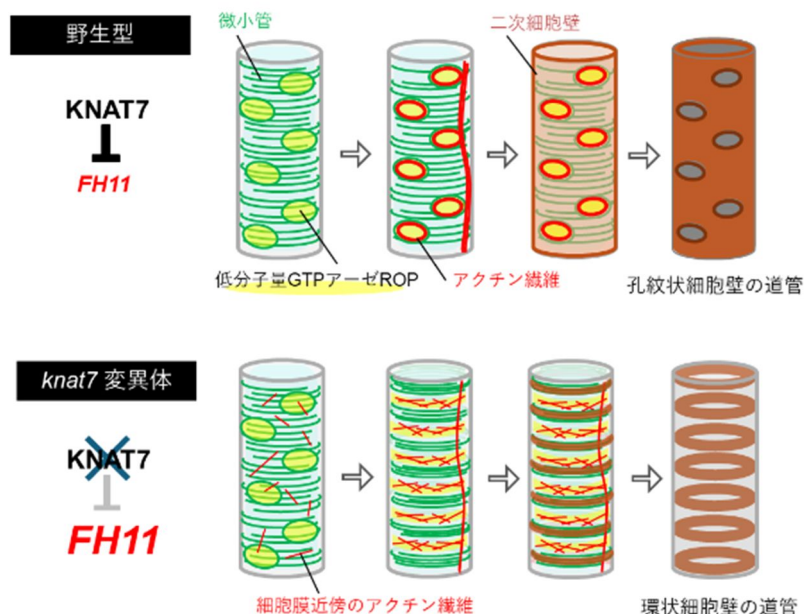
(3) FH による原生木部の細胞壁制御

CRISPR/Cas9 法を用いて FH11 を含む複数の FH 遺伝子群の機能喪失変異体を作成した結果、フォルミン欠損により、原生木部特有の二次細胞壁の環状パターンが乱れ、角度や分岐パターンに異常が生じていた。クラス 1 FH である FH5, FH6, FH7, FH8 およびクラス 2 FH である FH18, FH17, FH20 が少なくともこの機能に関連していることが明らかとなった。

本研究は、細胞膜近傍でのアクチン重合制御が、細胞壁パターン形成の上流に存在することを示す初めての研究である。従来は微小管の配列とその制御因子 (ROP、MIDD1 など) に注目が集まっていたが、アクチンの重合レベルが細胞壁のパターン決定において不可欠であることが示された。さらに、転写因子 KNAT7 が細胞骨格制御因子の転写を後生木部特異的に制御することで、組織特異的な制御ネットワークの存在が明らかとなった。この仕組みは、他の植物組織や他の種にも共通して存在する可能性が高く、今後の応用研究の基盤となる。本研究は細胞骨格による細胞壁の制御機構に関する新たな知見をもたらす、植物細胞生物学の新たな展開をもたらした。また、本研究成果を利用して道管の構造を人為的に制御することで、水輸送効率の高い作物や乾燥耐性のある植物の開発への応用や、木材やセルロースの質を人為的に調節する技術への応用も可能であると考えられる。

引用文献

Saku T. Kijima, Takema Sasaki, Yuichiro Kikushima, Daisuke Inoue, Shingo Sakamoto, Yuki Kondo, Soichi Inagaki, Masatoshi Yamaguchi, Nobutaka Mitsuda & Yoshihisa Oda (2025) Control of plasma membrane-associated actin polymerization specifies the pattern of the cell wall in xylem vessels. Nature Communications volume 16, 1921



図：FH11 による細胞膜近傍でのアクチン繊維の形成が細胞壁構造のタイプを変える。野生型 (上段) では KNAT7 転写因子が FH11 の発現を抑制し、細胞表層でのアクチン繊維の合成が抑制されている。その結果、局所的に ROP が微小管を排除し、孔紋状の細胞壁が形成される。knat7 変異体では FH11 が過剰に発現し、細胞表層でのアクチン繊維が増加、ROP や微小管に作用し、環状の細胞壁が形成される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Kijima Saku T., Sasaki Takema, Kikushima Yuichiro, Inoue Daisuke, Sakamoto Shingo, Kondo Yuki, Inagaki Soichi, Yamaguchi Masatoshi, Mitsuda Nobutaka, Oda Yoshihisa	4. 巻 16
2. 論文標題 Control of plasma membrane-associated actin polymerization specifies the pattern of the cell wall in xylem vessels	5. 発行年 2025年
3. 雑誌名 Nature Communications	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/s41467-025-56866-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 Higa Takeshi, Kijima Saku T., Sasaki Takema, Takatani Shogo, Asano Ryosuke, Kondo Yohei, Wakazaki Mayumi, Sato Mayuko, Toyooka Kiminori, Demura Taku, Fukuda Hiroo, Oda Yoshihisa	4. 巻 10
2. 論文標題 Microtubule-associated phase separation of MIDD1 tunes cell wall spacing in xylem vessels in Arabidopsis thaliana	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Nature Plants	6. 最初と最後の頁 100 ~ 117
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41477-023-01593-9	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 Sasaki Takema, Saito Kei, Inoue Daisuke, Serk Henrik, Sugiyama Yuki, Pesquet Edouard, Shimamoto Yuta, Oda Yoshihisa	4. 巻 14
2. 論文標題 Confined-microtubule assembly shapes three-dimensional cell wall structures in xylem vessels	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Nature Communications	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/s41467-023-42487-w	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 Hirano Tomoko, Okamoto Ayaka, Oda Yoshihisa, Sakamoto Tomoaki, Takeda Seiji, Matsuura Takakazu, Ikeda Yoko, Higaki Takumi, Kimura Seisuke, Sato Masa H.	4. 巻 13
2. 論文標題 Ab-GALFA, A bioassay for insect gall formation using the model plant Arabidopsis thaliana	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Scientific Reports	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/s41598-023-29302-8	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 Feiguelman Gil, Cui Xiankui, Sternberg Hasana, Hur Eliran Ben, Higa Takeshi, Oda Yoshihisa, Fu Ying, Yalovsky Shaul	4. 巻 149
2. 論文標題 Microtubule-associated ROP interactors affect microtubule dynamics and modulate cell wall patterning and root hair growth	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Development	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) 10.1242/dev.200811	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 該当する

1. 著者名 Xu Huizhen, Giannetti Alessandro, Sugiyama Yuki, Zheng Wenna, Schneider Rene, Watanabe Yoichiro, Oda Yoshihisa, Persson Staffan	4. 巻 12
2. 論文標題 Secondary cell wall patterning: connecting the dots, pits and helices	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Open Biology	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) 10.1098/rsob.210208	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 Roszak P, Heo Jung-ok, Blob B, Toyokura K, Sugiyama Y, de Luis Balaguer MA, Lau Winnie W. Y., Hamey F, Cirrone J, Madej E, Bouatta AM., Wang X, Guichard M, Ursache R, Tavares H, Verstaen, Wendrich J, Melnyk Charles W., Oda Y, et al	4. 巻 374
2. 論文標題 Cell-by-cell dissection of phloem development links a maturation gradient to cell specialization	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 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) 10.1126/science.aba5531	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 該当する

〔学会発表〕 計20件 (うち招待講演 7件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 Saku Kijima, Takema Sasaki, Yuichiro Kikushima, Daisuke Inoue, Shingo Sakamoto, Yuki Kondo, Soichi Inagaki, Masatoshi Yamaguchi, Nobutaka Mitsuda, Yoshihisa Oda
2. 発表標題 Control of plasma membrane-associated actin polymerization specifies the pattern of the cell wall in xylem vessels.
3. 学会等名 第66回日本植物生理学会年会 (招待講演) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2025年

1. 発表者名 貴嶋 紗久, 佐々木 武馬, 井上 大介, 近藤 侑貴, 垣 宗一, 山口 雅利, 小田 祥久
2. 発表標題 アクチン重合の制御 が道管における細胞壁パターンに影響する
3. 学会等名 日本植物学会第88回大会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Yoshihisa Oda
2. 発表標題 Microtubule organization in xylem vessels
3. 学会等名 第49回内藤コンファレンス (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Shogo TAKATANI, Takeshi HIGA, Yoshihisa ODA
2. 発表標題 The role of G protein dynamics in microtubule organizaion during xylem development
3. 学会等名 第49回内藤コンファレンス (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 比嘉 毅, 貴嶋 紗久, 佐々木 武馬, 高谷 彰吾, 近藤 洋平, 佐藤 繭子, 若崎 真由美, 豊岡 公德, 出村 拓, 福田 裕穂, 小田 祥久
2. 発表標題 道管において微小管に付随した相分離現象が細胞壁パターンを調節する
3. 学会等名 日本植物学会第87回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 浅野僚介, 佐々木武馬, 高谷彰吾, 小田祥久
2. 発表標題 MIDD1凝集体による微小管脱重合機構の解析
3. 学会等名 日本植物学会第87回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 小林恒, 佐々木武馬, 小田祥久
2. 発表標題 道管の細胞壁形成を制御するROPエフェクターの解析
3. 学会等名 日本植物学会第87回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 三宅陽穂, 杉山友希, 佐々木武馬, 小田祥久
2. 発表標題 道管の細胞壁パターンを制御する新規細胞骨格付随タンパク質の解析
3. 学会等名 日本植物学会第87回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 佐々木 武馬, 石崎 公庸, 本瀬 宏康, 小田 祥久
2. 発表標題 陸上植物における紡錘体軸および細胞分裂方向の制御機構
3. 学会等名 日本植物学会第87回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 小田 祥久
2. 発表標題 植物の道管に見る細胞内パターン形成のロジック
3. 学会等名 第61回日本生物物理学会年会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 小田 祥久
2. 発表標題 植物における細胞壁形成の時空間制御
3. 学会等名 第46回日本分子生物学会年会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 小田 祥久
2. 発表標題 管液フローを規定する細胞壁パターンの構築機構
3. 学会等名 第46回日本分子生物学会年会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 貴嶋紗久，佐々木武馬，近藤侑貴，稲垣宗一，山口雅利，小田祥久
2. 発表標題 転写調節されるアクチン重合が木部道管における細胞壁パターンを切り替える
3. 学会等名 第65回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 佐々木武馬, 石崎公庸, 本瀬宏康, 小田祥久
2. 発表標題 陸上植物におけるprospindle の形成機構と役割について
3. 学会等名 第65回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Yuki Sugiyama, Yoshihisa Oda
2. 発表標題 Exploring autolytic mechanisms of sieve elements with an improved phloem induction system
3. 学会等名 第65回日本植物生理学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 小田祥久
2. 発表標題 イメージング共同研究から迫る植物細胞壁の構築機構
3. 学会等名 北海道大学ニコイメージングセンター学術講演会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐々木武馬, 山田萌恵, 貴嶋紗久, 比嘉毅, 佐藤繭子, 若崎真由美, 豊岡公德, 近藤洋平, 堤元佐, 大友康平, 村田隆, 根本知己, 小田祥久
2. 発表標題 二次細胞壁パターンのねじれを抑制する細胞骨格因子の同定
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 貴嶋紗久, 坂本真吾, 光田展隆, 小田祥久
2. 発表標題 直接的なアクチンイメージングを目指した機能的なアクチン修飾法の開発
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 佐々木武馬, 石崎公庸, 本瀬宏康, 小田祥久
2. 発表標題 微小管付随タンパク質CORD はゼニゴケにおいて細胞分裂面の決定に関与する
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 比嘉毅, 近藤洋平, 出村拓, 福田裕穂, 小田祥久
2. 発表標題 微小管依存的な液-液相分離を介した二次細胞壁パターンの制御
3. 学会等名 第63回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2022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
---------	---------