

令和 5 年 5 月 27 日現在

機関番号：10101

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2022

課題番号：21K19247

研究課題名（和文）植物の原形質連絡の透過度を制御する謎の分子機構解明に挑む

研究課題名（英文）Study of the molecular mechanism that controls the plasmodesmata permeability in plants

研究代表者

藤田 知道 (Fujita, Tomomichi)

北海道大学・理学研究院・教授

研究者番号：50322631

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：私たちはヒメツリガネゴケにおいてカロース多糖に依存しない新しいPD制御系の分子機構を明らかにするため、(a)2000種類の化合物スクリーニングを実施した。また、(b)SnRK2の基質リスト、PDに局在するタンパク質リストを探索し、SnRK2の基質でかつPD制御に関わると考えられるタンパク質候補をリスト化した。以上の結果から、複数の候補タンパク質を同定し、解析を進めた結果、アクチン制御タンパク質の1つ、Dが原形質連絡の制御に関わることを見出した。現在タンパク質Dの機能解析を継続しており、Dによる新規のPD制御系の全貌解明に迫りたい。

研究成果の学術的意義や社会的意義

PDは細胞壁を貫く小さな穴であり、様々な情報分子が移動している。近年、細胞壁多糖の1種、カロースの合成と分解の制御がこうした情報分子の細胞間移動に重要であることがわかってきた。この一方で、カロース以外にも重要なPD制御系があると考えられてはいるものの、その分子機構は未だによくわかっていない。本研究によりこの未知の制御系に關与する候補タンパク質を同定できた可能性は高く、この学術的意義は大きい。今後さらに解析を進めることで、カロース非依存的なPD制御系の分子機構の解明が期待できる。

研究成果の概要（英文）：In order to elucidate the molecular mechanism of a novel PD regulatory system independent of callose accumulation, we (a) conducted a screening of 2000 chemical compounds in the moss and (b) searched for a list of substrates of SnRK2 and a list of proteins localized to PD. Based on these results, we identified several candidate proteins and analyzed them. As a result, we found that one of the actin-related proteins, D, is involved in the regulation of PD. We are currently continuing our functional analysis of protein D and aim to elucidate the whole picture of the novel PD regulatory system by D.

研究分野：植物科学

キーワード：原形質連絡 ヒメツリガネゴケ

## 1. 研究開始当初の背景

植物の細胞間コミュニケーションに必須の構造として原形質連絡(PD)が知られている。PDは細胞壁を貫く小さな穴であり、ホルモンやタンパク質など様々な情報分子が移動しており、この分子移動は動的に制御されていることがわかってきた。中でも細胞壁多糖の1種、カロースの合成と分解の制御が重要であることがわかってきた。しかし、カロース以外にも重要なPD制御系があると考えられているものの、その分子機構はよくわかっていない。

## 2. 研究の目的

本研究はコケ植物(ヒメツリガネゴケ)の原系体に注目し、ストレスによるPD透過度の低下を制御するカロース非依存的な制御機構を明らかにすることを目的とする。

## 3. 研究の方法

本研究ではストレスによるPD透過度の低下を制御するカロース非依存的な制御機構を明らかにするため、(a)ストレス負荷時のPD透過度の低下を阻害するような化合物スクリーニング系を立ち上げ、2000種類の化合物スクリーニングを実施する。同定した候補化合物について標的となるタンパク質を探索し、その機能を調べ目的とするものであるかどうか調査する。また、(b)ストレス負荷時のPD透過度の低下に重要なアブシジン酸コアタンパク質の1つ、SnRK2キナーゼの基質リスト(ヒメツリガネゴケ由来)を調査し、加えて公表済みのPDに局在するタンパク質リスト(シロイヌナズナ由来)も探索し、SnRK2の基質でかつPD制御に関わると考えられるタンパク質候補を選抜する。選抜したタンパク質の機能を調べ目的とするものであるかどうか調査する。

## 4. 研究成果

(a)2000種類の化合物スクリーニングを実施し、目的の化合物の選抜の終了を目指した。

その結果、ほぼ全ての化合物のスクリーニングを終え、合計3種類の候補化合物の同定に成功した。また、(b)SnRK2の基質リスト、PDに局在するタンパク質リスト等公開データベースや公表済みの学術論文等を探索し、SnRK2の基質でかつPD制御に関わると考えられるタンパク質をリスト化し、ショ糖輸送体、小胞体タンパク質(2種類)、呼吸系酵素、アクチン制御タンパク質等が同定できた。

(a)、(b)の調査から解析の優先順位をつけ、小胞体タンパク質の2種類(ここではA、Bと名付ける)とアクチン制御タンパク質Cを最有力候補と考え解析を進めた。SnRK2誘導性過剰発現株を背景に、これらのA、Bそれぞれのタンパク質の誘導性過剰発現株や遺伝子欠損株を作成した。またパラログを含めた多重遺伝子欠損株も作成した。またA、B、Cそれぞれの細胞内局在を可視化するため、蛍光タンパク質をノックインした形質転換株を作出し調査した。これらの研

究の結果、いずれの場合も PD 近傍での局在が観察できたが、PD そのものへの明瞭な局在はこれまでのところ観察できなかった。また A, B, C のいずれについても SnRK2 依存的な PD 制御に関わる関与を過剰発現株や遺伝子欠損株のいずれにおいても見出せなかった。一方、アクチン制御タンパク質 C のパラログ D について解析を進めたところ、このうちの 1 つが原形質連絡の制御に関わることを新たに見出した。また 2022 年度に新しく公表されたヒメツリガネゴケの PD 局在タンパク質のデータを精査し、このパラログ D の下流で PD 制御に関わると考えられるタンパク質を選抜し、その機能解析に着手した。また (a) で同定した 3 つの化合物についても並行して解析を進め、これらは SnRK2 の下流で機能するが、ABI3 の下流では機能しないらしいことを突き止めた。今後は、タンパク質 D を中心に機能解析を進め新規の PD 制御系の全貌解明に迫りたい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Akihiko Hiroguchi, Kohei Nakamura, Tomomichi Fujita	4. 巻 39
2. 論文標題 Abscisic acid switches cell division modes of asymmetric cell division and symmetric cell division in stem cells of protonemal filaments in the moss <i>Physcomitrium patens</i>	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Plant Biotechnology	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） 10.5511/plantbiotechnology.22.0107a	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 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 神野智世、藤田知道
2. 発表標題 アブシジン酸はヒメツリガネゴケにおいて原形質連絡の形成を抑制する
3. 学会等名 日本植物生理学会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計3件

1. 著者名 Takumi Tomoi, Yoan Coudert, Tomomichi Fujita	4. 発行年 2022年
2. 出版社 Springer Nature	5. 総ページ数 -
3. 書名 Plasmodesmata	

1. 著者名 Arthur Muller, Tomomichi Fujita, Yoan Coudert	4. 発行年 2022年
2. 出版社 Springer Nature	5. 総ページ数 -
3. 書名 Plasmodesmata	

1. 著者名 神野 智世・藤田 知道	4. 発行年 2022年
2. 出版社 ニュー・サイエンス社	5. 総ページ数 66
3. 書名 月刊「細胞」2022年5月号 植物の持つしなやかな環境適応戦略	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<a href="https://www.sci.hokudai.ac.jp/PlantSUG01ne/">https://www.sci.hokudai.ac.jp/PlantSUG01ne/</a>
---

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
---------	---------