

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 13 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22370013

研究課題名（和文）茎形成を統御する細胞壁遺伝子群の転写制御システムの解明

研究課題名（英文）Studies on regulatory mechanisms of cell-wall related genes involved in stem growth in plants.

## 研究代表者

西谷 和彦（KAZUHIKO NISHITANI）

東北大学・大学院生命科学研究科・教授

研究者番号：60164555

## 研究成果の概要（和文）：

植物の茎形成は、最終的には細胞壁の構築・再編過程を通して「伸長機能」と「支持機能」を最適化する形で進むことが経験的に知られている。しかし、その統御の分子機構の多くは、尚不明である。この研究では、植物細胞壁の再編過程において中心的な役割を担うことが知られている二つの細胞壁関連遺伝子ファミリーであるエンド型キシログルカン転移酵素/加水分解酵素遺伝子（XTH）と、ペクチンメチルエステラーゼ遺伝子（PME）に焦点を当て、伸長機能と支持機能に関わるそれぞれのメンバーの特定を進めた。その結果、OsXTH19 がイネのキシログルカンの分解を触媒する機能を持ち、細胞壁のゆるみを介した伸長機能に関与する可能性を明らかにした。また、シロイヌナズナ PME35 がシロイヌナズナの花茎の一次細胞壁のペクチンの脱メチル化を通して、力学的性質の制御を介して茎の支持機能の制御に関わることを明らかにした。これらの細胞壁関連遺伝子の制御に関わる因子の探索は研究を継続中である。

## 研究成果の概要（英文）：

Stem growth in plants is ultimately regulated through optimization of the capabilities of both “extension” and “support” of individual cells within the stem via construction and restructuring of the cell wall thereof. The mechanisms governing this optimization process of the two capabilities for the stem growth still remain elusive. In this study we focused on two cell-wall related gene families, *XTH* encoding xyloglucan endo transglucosylase/hydrolase and *PME* encoding pectin-methylesterase. We found that rice *OsXTH19* gene is capable of hydrolyzing xyloglucan in rice and is a candidate for cell-wall loosening agent in rice cell wall. We demonstrated that Arabidopsis *PME35* gene is required for demethylesterification of pectin in the primary cell walls of the stem, and is involved in the regulation of mechanical support of the inflorescent stem of Arabidopsis. With respect to factors governing the regulation of transcription of these cell-wall related genes are now under investigation.

## 交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	4,600,000	1,380,000	5,980,000
2011 年度	4,800,000	1,440,000	6,240,000
2012 年度	4,800,000	1,440,000	6,240,000
年度			
年度			
総計	14,200,000	4,260,000	18,460,000

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：植物,茎成長,支持組織,細胞壁,転写制御,PME35

### 1. 研究開始当初の背景

植物の形態構築はモジュール構造から成るのが特徴で、茎は、その基本ユニットである。茎形成は、植物ホルモンや環境シグナルの情報伝達系を通して制御され、最終的には茎を構成する各組織に固有の伸長機能と支持機能の統御を通して制御されている。実際、茎形成の初期段階では、茎を構成する細胞は各組織が同調して伸長を続け、伸長停止後は、支持機能を獲得し、モジュール構造全体を支える役割を担うことが経験的に知られる。この点で、茎形成統御の主要な制御点の一つは、「伸長機能」から「支持機能」へのモード切り替え過程であると理解することができる。しかし、これらの統御機構は未解明である。

一般に、植物細胞の伸長機能と支持機能は、共に細胞壁の構築再編過程を通して発揮される。したがって、両機能それぞれに必須の細胞壁遺伝子群を同定し、それらの発現を統御する共通の転写因子を探索すれば、伸長機能と支持機能を統御する転写制御システムの解明が可能ではある。

### 2. 研究の目的

茎形成は発生プログラムと環境シグナルによる制御を受けながら、最終的には細胞壁の構築・再編過程を通して「伸長機能」と「支持機能」を最適化する形で進むことが経験的に知られている。しかし、その統御の分子機構は全く不明である。これまでの研究で、細胞壁関連遺伝子ファミリーである XTH や PME の特定のメンバーが、茎の特定組織の伸長機能と支持機能にそれぞれ必須であることをシロイヌナズナとイネで実証してきた。本研究では、この成果を足がかりとして、茎の各組織の伸長と支持に於いて中心的役割を担う細胞壁関連タンパク質群を網羅的に同定し、それらの機能を統御する共通の転写制御システムの解明を目指す。

### 3. 研究の方法

シロイヌナズナのペクチンメチルエステラーゼをコードする PME35 の欠損変異体、およびイネのキシログルカン転移酵素/加水分解酵素をコードする OsXTH19, 20 の過剰発現体を用いて、解析を進めた。

また、シロイヌナズナの T-DNA 挿入ホモラインの網羅的なスクリーニングにより、胚軸伸長停止の時期の異常な変異体を単離し、その遺伝子のタンパク質機能および表現型の解析を進めた。

### 4. 研究成果

PME35 の欠損変異とその相補ラインを用いて、PME35 の細胞壁中での機能の解明を進めた結果、PME35 の欠損による茎の支持機能の低下は、皮層などの一次細胞壁内のペクチンのホモラクツロナン領域のメチルエステル基の分解が滞ったことにより、カルシウム架橋を形成できないことが直接の原因であること、リグニンやキシランなどの二次細胞壁成分の変化によるものではないことを明らかにした。この結果は、茎の伸長後の支持機能に一次細胞壁が直接関与していることを示すものである。

イネの OsXTH19 および OsXTH20 の組換えタンパク質の機能を解析し、キシログルカン加水分解する活性を持つことを証明した。これにより、イネに於いてもキシログルカンが細胞壁のゆるみを介して細胞伸長に関与する可能性が示唆された。しかし、OsXTH19, 20 をコードする XTH 遺伝子を過剰発現した形質転換体では、地上部の成長の変化が特定の組織に限定的であったことから、イネの細胞伸長におけるキシログルカンの役割は限定的であると結論できる。

シロイヌナズナの T-DNA 挿入ホモラインの網羅的なスクリーニングにより、胚軸伸長停止が野生型よりも遅くなる変異体および、早くなる変異体をそれぞれ単離した。前者の変異体の原因遺伝子から推定されるタンパク質は、細胞膜上に局在することが予想された。

### 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 7 件)

① Juntaro Negi, Kosuke Moriwaki, Mineko Konishi, Ryusuke Yokoyama, Toshiaki Nakano, Kensuke Kusumi, Mimi Hashimoto-Sugimoto, Julian I. Schroeder, Kazuhiko Nishitani, Shuichi Yanagisawa, Koh Iba (2013) A Dof Transcription Factor, SCAP1, is essential for the development of functional stomata in Arabidopsis. Current Biology, 査読有 23: 479-484.  
DOI: 10.1016/j.cub.2013.02.001

② Shoko Hongo, Kaori Sato, Ryusuke

- Yokoyama, Kazuhiko Nishitani (2012) Demethylesterification of the primary wall by PECTIN METHYLESTERASE 35 is important for the mechanical support of the Arabidopsis stem. The Plant Cell, 査読有 24:2624-2634. DOI: 10.1105/tpc.112.099325
- ③ 西谷和彦、横山隆亮(2012) 植物細胞壁は今なぜ注目されているのか 遺伝 査読なし 66: 24-27
- ④ 横山隆亮、西谷和彦 (2012) 細胞壁の進化 遺伝 査読なし 66: 28-33
- ⑤ Tsuyoshi Yamamoto, Atsuko Nakamura, Hiroaki Iwai, Tadashi Ishii, Jian Feng Ma, Ryusuke Yokoyama, Kazuhiko Nishitani, Shinobu Satoh and Jun Furukawa (2011) Effect of silicon deficiency on secondary cell wall synthesis in rice leaf. Journal of Plant Research, 査読有 125: 771-779. DOI: 10.1007/s10265-012-0489-3
- ⑥ Taro Harada, Yuka Torii, Shigeto Morita, Reiko Onodera, Yoshinao Hara, Ryusuke Yokoyama, Kazuhiko Nishitani, Shigeru Satoh (2011) Cloning, characterization and expression xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase and expansin genes associated with petal growth and development during carnation flowering opening. Journal of Experimental Botany, 査読有 62: 815-823. DOI: 10.1093/jxb/erq319
- ⑦ Ryusuke Yokoyama, Yohei Uwagaki, Hiroko Sasaki, Taro Harada, Yuji Hiwatashi, Mitsuyasu Hasebe, Nishitani, Kazuhiko (2010) Biological implications of the 花茎 occurrence of 32 members of XTH (xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase) family of proteins in the bryophyte Physcomitrella patens. The Plant Journal, 査読有 64: 645-656. DOI: 10.1111/j.1365-313X.2010.04351.x
- ⑧ Rashmi Sasidharan, C.C. Chinnappa, Marten Staal, J Theo M Elzenga, Ryusuke Yokoyama, Kazuhiko Nishitani, Laurentius ACJ Voeselek and Ronald Pierik (2010) Light quality-mediated petiole elongation in Arabidopsis during shade avoidance involves cell wall modification by XTHs. Plant Physiology, 査読有 154: 978-990.

DOI: 10.1104/pp.110.162057

〔学会発表〕 (計 17 件)

- ① 國枝正、嶋田知生、横山隆亮、西村いくこ、西谷和彦 シロイヌナズナ種皮ムシレージの放出を制御する種皮細胞壁分解機構の解析 第 54 回日本植物生理学会年会 2013 年 03 月 21 日～2013 年 03 月 23 日 岡山大学
- ② 木戸奈都美、横山隆亮、西谷和彦 イネ細胞壁の(1,3; 1,4)-β-D-グルカンの機能解析 東北植物学会第 2 回大会 2012 年 12 月 15 日～2012 年 12 月 16 日 弘前大学
- ③ 横山隆亮、西谷和彦 植物細胞壁の構造と機能の多様性 日本植物学会 第 76 回大会 2012 年 09 月 15 日～2012 年 09 月 17 日 兵庫県立大学
- ④ Ryusuke Yokoyama, Shoko Hongo, Kazuhiko Nishitani Functional analyses of pectin related genes involved in physical properties of supportive tissue in Arabidopsis stem. 23th International Conference on Arabidopsis Research. 2012 年 07 月 03 日～2012 年 07 月 07 日 Vienna, Austria
- ⑤ 山本剛史、古川純、中村敦子、岩井宏暁、石井忠、馬建鋒、横山隆亮、西谷和彦、佐藤忍 イネにおけるケイ素欠乏下での二次細胞壁合成の制御 第 53 回日本植物生理学会年会 2012 年 3 月 16 日～2012 年 3 月 18 日 京都産業大学
- ⑥ 横山隆亮、田村典子、堀江佐知子、澤杏弥、木戸奈都美、桑島美香、西谷和彦 イネにおけるセルロース系エタノールの効率的生産のための細胞壁多糖の改変 第 34 回日本分子生物学会年会 2011 年 12 月 13 日～12 月 16 日 パシフィコ横浜
- ⑦ 横山隆亮、澤杏弥、木戸奈都美、桑島美香、西谷和彦 植物細胞壁構築の多様性 日本植物学会第 75 回大会 2011 年 9 月 17 日～2011 年 9 月 19 日 東京大学
- ⑧ 國枝正、横山隆亮、西村いくこ、西谷和彦 シロイヌナズナ種皮ムシレージの放出に関与する細胞壁分解機構 日本植物学会第 75 回大会 2011 年 9 月 17 日～2011 年 9 月 19 日 東京大学
- ⑨ 横山隆亮 陸上植物の研究を支えるモデル植物たち 日本植物学会東北支部第 22 回宮城(石巻)大会 2010 年 12 月 18 日～12 月 19 日 石巻専修大学
- ⑩ 横山隆亮、堀江佐知子、宮崎豪、松井透、澤杏弥、木戸奈都美、桑島美香、西谷和彦 セルロース系エタノールの効率的生産のためのイネ細胞壁の改変 第 33 回日本分子生物学会年会 2010 年 12

月7日～12月10日 神戸ポートアイランド

- ⑪ 本郷祥子、佐藤香梨、横山隆亮、西谷和彦 シロイヌナズナ花茎形成におけるペクチンメチルエステラーゼ (PME) の役割 第33回日本分子生物学会年会 2010年12月7日～12月10日 神戸ポートアイランド
- ⑫ 佐々木大樹、原吉直、上垣陽平、齋藤圭、横山隆亮、西谷和彦 陸上植物におけるエンド型キシログルカン転移酵素/加水分解酵素 (XTH) の機能の多様性 第33回日本分子生物学会年会 2010年12月7日～12月10日 神戸ポートアイランド
- ⑬ 横山隆亮、佐々木大樹、原吉直、西谷和彦 イネにおけるキシログルカンの役割とXTHの機能解析 日本植物学会第74回大会 2010年9月9日～9月11日 中部大学
- ⑭ 本郷祥子、佐藤香梨、横山隆亮、西谷和彦 シロイヌナズナ花茎形成におけるペクチンメチルエステラーゼ (PME) の役割 日本植物学会第74回大会 2010年9月9日～9月11日 中部大学
- ⑮ 山本剛史、古川純、中村敦子、岩井宏暁、石井忠、馬建鋒、横山隆亮、西谷和彦、佐藤忍 ケイ素がイネ細胞壁構成糖に与える影響 日本植物学会第74回大会 2010年9月9日～9月11日 中部大学
- ⑯ Ryusuke Yokoyama, Yoshinao Hara, Sachiko Horie, Go Miyazaki, and Kazuhiko Nishitani Genetic modification of rice cell-wall glucans by means of reverse-genetics approaches. XII Cell Wall Meeting 2010年7月25日～7月30日 Porto-Portugal
- ⑰ Yoshinao Hara, Hiroki Sasaki, Yohei Uwagaki, Taro Harada, Ryusuke Yokoyama, Yuji Hiwatashi, Mitsuyasu Hasebe, Kazuhiko Nishitani Functional evolution of XTH family of proteins in angiosperms and bryophytes. XII Cell Wall Meeting 2010年7月25日～7月30日 Porto-Portugal

[図書] (計2件)

- ① 講談社 植物細胞壁 (西谷和彦、梅澤俊明編著) (2013) pp.1-349
- ② 西谷和彦 植物の成長 裳華房(2011) pp.1-216

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況 (計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

[その他]

ホームページ等

[http://www.biology.tohoku.ac.jp/lab-www/nishitani\\_lab/](http://www.biology.tohoku.ac.jp/lab-www/nishitani_lab/)

## 6. 研究組織

### (2) 研究代表者

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

### (1) 研究分担者

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

### (3) 連携研究者

なし ( )