

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 1 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22570033

研究課題名（和文）植物の組織分化における細胞壁構築のための分子輸送メカニズムの解明

研究課題名（英文）Analysis of the intercellular transport for cell wall construction in differentiation of plant tissues

研究代表者

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

研究成果の概要（和文）：植物の各組織の形質を決定する最も重要な因子の1つは、組織を構成する個々の細胞の周囲に構築される細胞壁である。複雑な高次構造物である細胞壁を細胞外で正確に構築するためには、その材料や道具となる分子が適切なタイミングで正確なポイントに輸送されなければならない。本研究では、イネの維管束分化において、細胞壁の材料となる多糖分子が細胞内からだけでなく、細胞間で輸送制御されていることを証明した研究である。

研究成果の概要（英文）：One of the defining features of plant morphogenesis is tissue-differentiation based on the properties of cell wall surrounding each cell. The cell walls are complex structures, and its assembly is involved in dynamic enzymes and substrates trafficking to the proper point in extracellular space. The present study provides evidence for extracellular transport of the materials of cell wall in vascular differentiation in rice.

交付決定額

（金額単位：円）

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-----------|-----------|-----------|
| 2010年度 | 1,500,000 | 450,000 | 1,950,000 |
| 2011年度 | 1,000,000 | 300,000 | 1,300,000 |
| 2012年度 | 1,000,000 | 300,000 | 1,300,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,500,000 | 1,050,000 | 4,550,000 |

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：細胞壁、イネ、キシログルカン、師管、細胞間輸送

1. 研究開始当初の背景

(1) 植物の各組織の形質を決定する最も重要な因子の1つは、組織を構成する個々の細胞の周囲に構築される細胞壁である。複雑な高次構造物である細胞壁を正確に組み立てるためには、多様な酵素や多糖が適切なタイミングで正確に細胞外面のポイントに輸送さ

れなければならない、そのような輸送制御システムの存在が示唆されていた。

(2) 研究開始当初から現在まで、細胞の内から外へと物質を分泌するための小胞輸送の分子機構についての研究が飛躍的に進歩し、多数の細胞壁構築関連分子も小胞輸送によ

って細胞内から細胞外へと分泌されていると推測された。しかしながら細胞外へ分泌された後の細胞壁構築関連分子の輸送制御システムに関しては全く未解明であった。

(3) 細胞壁構築関連分子の輸送に関して、酵素とその基質となる多糖が同一の経路で運ばれる場合、輸送過程で化学反応が進行してしまう可能性がある。このような危険性を回避するために特別な制御機構が存在すると推測されていたが、その分子機構についての報告も皆無であった。

2. 研究の目的

(1) 細胞壁構築関連分子の細胞壁構築ポイントへの輸送制御システムの1つとして、これまでに全く報告のない細胞間輸送という現象を証明することを目指す。

(2) 植物は組織分化によって各細胞独自の細胞壁を構築するが、特にこのような細胞タイプ特異的な細胞壁の構築過程において、細胞間で輸送される酵素または基質が存在するかを明らかにする。

(3) 細胞間輸送が確認された場合、以下の3点の可能性が考えられる。

- ① 酵素と基質が同経路で輸送されている。
 - ② 酵素と基質が別経路で輸送されている。
 - ③ 酵素または基質のどちらかのみが細胞間を輸送されている。
- ②または③の場合、細胞間輸送というものが輸送過程での化学反応を回避するための重要な機構と考えられ、新たな輸送制御システムの発見に繋がるものと期待される

3. 研究の方法

申請者は本研究開始までの一連の細胞壁研究を通し、イネの師管細胞の細胞壁には側鎖にフコースを転移させたフコシル化キシログルカンが特異的に存在しているが、師管細胞ではFUTなどのキシログルカン合成関連遺伝子の発現が確認できないという実験結果を得ていた。本研究では、このイネの師管細胞の分化過程に着目して、キシログルカンの細胞間輸送の可能性を検証する。

(1) イネにおけるキシログルカンの局在をキシログルカンの様々な分子構造を特異的に認識するモノクローナル抗体を用いた間接蛍光抗体法および免疫電子顕微鏡法で詳細に解析する。

(2) FUTなどのキシログルカン合成関連酵素を特異的に認識するペプチド抗体を作製し、間接蛍光抗体法および免疫電子顕微鏡法を用いてキシログルカンを合成している細胞

を同定する。

(3) 細胞壁構築または再編ポイントにおいてキシログルカン分子の繋ぎ換え反応を触媒するキシログルカン転移酵素/加水分解酵素(XTH)を特異的に認識するペプチド抗体を作製し、XTHが発現している細胞を調べるとともにXTHによる細胞壁構築・再編ポイントを明らかにする。

(4) キシログルカン合成関連酵素の発現を抑制するRNAi形質転換体およびキシログルカン加水分解酵素の過剰発現体を作製し、師管細胞の細胞壁へのキシログルカンの輸送が停止することを確認するとともに、師管細胞の細胞壁のキシログルカンを分解することによる植物体への影響を解析し、キシログルカンの機能を解明する。

(5) 他の植物種についても免疫組織学的手法を用いてイネと同様のフコシル化キシログルカンの特異的な分布が見られるかを解析し、フコシル化キシログルカンの師管細胞の細胞壁への特異的な蓄積や細胞間輸送の普遍性について調べる。

4. 研究成果

(1) イネにおいて、フコシル化キシログルカンはほとんどの細胞の細胞壁には存在しなく、師管細胞の細胞壁だけに特異的に蓄積していることが明らかになった(図1)。

(2) 一方、FUTなどのキシログルカン合成関連酵素については、師管細胞での発現は確認できず、師管細胞の周囲の伴細胞等で高発現していることが明らかになった。尚、その伴細胞自身の細胞壁ではフコシル化キシログルカンの局在は確認されなかった(図1)。

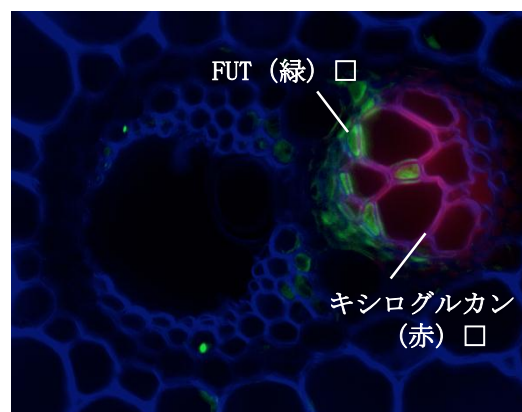


図1 師部組織におけるFUTとキシログルカンの局在

(3) 細胞壁構築または再編ポイントでキシログルカン分子の繋ぎ換え反応を触媒する

XTH は師管細胞の細胞壁に多量に局在していることが明らかになった。

(4) 以上の結果から、イネの維管束の組織分化の過程では、フコシル化キシログルカンは伴細胞などで合成・分泌された後、細胞間輸送によって師管細胞の外面へと運ばれていることが示された。一方、キシログルカン分子を繋ぎ換える XTH は師管細胞内から分泌され、師管の細胞外面で伴細胞から運ばれてきたキシログルカンの繋ぎ換え反応を行っているものと考えられた。この結果は、師管細胞の細胞壁構築において、基質（フコシル化キシログルカン）と酵素（XTH）との輸送中の化学反応を回避するため、フコシル化キシログルカンを伴細胞から構築ポイントへと細胞間輸送している可能性を示唆するものであった（図 2）。

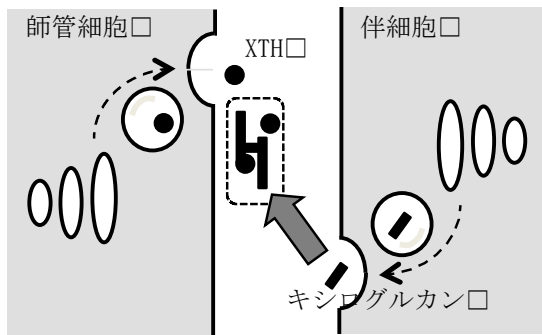


図 2 イネの師部組織における細胞間輸送のモデル

(5) キシログルカン加水分解酵素を過剰に発現させた形質転換体では、葉の組織の力学的性質に変異が生じ、成長に伴う葉の展開パターンなどに異常が観察された。また植物体全体の成長量も低下するなどの表現型も観察されたことから、フコシル化キシログルカンの分解による師管細胞の細胞壁の構造変化が師管の機能を低下させ、多面的な成長への影響を及ぼしているものと推察された。

(6) 師管細胞の細胞壁におけるキシログルカンの局在はコケ、シダ、裸子植物そしてツクサ亜綱以外の被子植物では確認できなかった。一方、イネ科植物を含むツクサ亜綱の植物種ではキシログルカンの師管細胞の細胞壁への特異的な蓄積が幅広くみられた。この結果から、師部組織におけるフコシル化キシログルカンについての細胞間輸送は、単子葉植物からツクサ植物が派生する際に獲得された可能性があると考えられた。

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 横山隆亮, 西谷和彦 (2012) 細胞壁の進化 遺伝 査読なし 66: 28-33
- ④ 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
- ⑤ 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
- ⑥ Ryusuke Yokoyama, Yohei Uwagaki, Hiroko Sasaki, Taro Harada, Yuji Hiwatashi, Mitsuyasu Hasebe, Nishitani, Kazuhiko (2010) Biological implications of the 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

- ⑦ 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

放出に關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1件)

- ① 横山隆亮 講談社 植物細胞壁(西谷和彦、梅澤俊明編著) 2013、pp.32-43, 113-116, 248-252, 267-268, 282-286, 288-289

[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/

6. 研究組織

(1) 研究代表者

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

(2) 研究分担者

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

(3) 連携研究者

なし ()

研究者番号：