科学研究費助成事業 研究成果報告書



平成 2 9 年 6 月 9 日現在

機関番号: 11301

研究種目: 新学術領域研究(研究領域提案型)

研究期間: 2012~2016

課題番号: 24114005

研究課題名(和文)情報処理空間としての細胞壁高次構造の構築と動態制御

研究課題名(英文)Structure and dynamics of the plant cell wall as information processing system

研究代表者

西谷 和彦(Nishitani, Kazuhiko)

東北大学・生命科学研究科・教授

研究者番号:60164555

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 131,700,000円

研究成果の概要(和文):情報処理システムとしての植物細胞壁の機能は,その高次構造と密接に関連している。植物細胞壁はセルロース微繊維がキシログルカンと呼ばれる多糖類により架橋された構造モデルが古くより提唱されてきたが,この構造モデルでは説明できない事象が報告されていた。本研究の最も重要な成果は,セルロース分子同士を繋ぎ換える酵素CETを発見したことである。この新規酵素の働きを基にして,情報処理システムとしての新しい細胞壁動態モデルを提唱した。

研究成果の概要(英文): The function of the plant cell wall in information-processing largely depend on its structural features. The most widely accepted structural model for the plant cell wall was "tethered-network model" which holds that cellulose microfibrils are tethered by xyloglucan or other matrix polysaccharides to form skeletal network of cellulose. But this model has been challenged by recent reports. In the present we found that certain cell wall enzyme can mediate splitting and reconnection of cellulose molecules by transglucosylation reaction, and named this enzyme activity as Cellulose Endo Transglucosylase (CET). On the basis of this new finding we propose a new structural model for the plant cell wall, a model in which cellulose microfibrils are directly tethered via a covalent bonding between cellulose microfibrils.

研究分野: 植物生理学

キーワード: 植物細胞壁 高次構造 セルロース キシログルカン XTH CET セルロース繋ぎ換え反応 細胞壁モ

学光

1.研究開始当初の背景

植物細胞壁は,百種を超える遺伝子ファミリ ーにコードされた数千種の細胞壁関連タン パク質群の共同作業により構築・再編・維持 される典型的な「動的複雑系」である。細胞 壁の多元的インテリジェント機能を解明す るには,これらのタンパク質間のネットワー ク解析と,その基質となる細胞壁ドメインの 特定が不可欠である。研究代表者である西谷 は細胞壁再編に関わるキー酵素であるXTHフ ァミリーを 1992 年に世界に先駆けて発見し, その基質がキシログルカン架橋であること を実証してきた。一方,研究分担者である大 林は植物遺伝子の共発現解析用データベー ス ATTED-II (http://atted.jp) を構築・開発し, 遺伝子間の関係性を解析する手法を世界に 先駆けて確立した。

2.研究の目的

インテリジェント空間である細胞壁の分子動態を,発生過程や刺激応答などの時間軸と,細胞型や細胞極性などの空間軸に沿ってかな子解剖することにより,細胞壁が,多元的なインテリジェント機能を発揮する分子メカニズムを解明するのが本計画研究の目的である。この目的のために,本研究では西谷と大林が,それぞれがこれまで独自に培ってきた研究手法を融合することにより,これまでに無かったアプローチで細胞壁超分子一般の動態の解析を進める。

3.研究の方法

- (1) 茎寄生植物であるネナシカズラの寄生 現象をモデルケースとして,吸器形成における時空間軸の動態を,異種植物間相互作用や 細胞の応答性,細胞壁酵素の動態として包括 的に解析する。
- (2)細胞壁の構築・再編・維持に中心的な 役割をもつ遺伝子群である XTH ファミリーに 着目し,このファミリーの内で,酵素機能や 生物機能が未解明のメンバーについて,その 酵素機能の解明をめざす。特に XTH の酵素反 応の特異性に関する従来の知見を見直し,キ シログルカン以外の多糖に対する酵素活性 の見直しを行い, XTH ファミリーの生物学的 な新規機能について再検討を行う。
- (3)植物細胞壁が,百種を超える遺伝子ファミリーにコードされた数千種の細胞壁関連蛋白質群の共同作業により構築・再編・維持される典型的な「動的複雑系」であることから,共発現解析などの手法を用いた解析が不可欠である。そのために組織別のマイクロアレイデータから関係性を基にして,細胞壁関連遺伝子群の静的機能マップを作成し,協調的な役割をはたす遺伝子を推測するためのデータベースの高精度化を進める。

4. 研究成果

(1)アメリカネナシカズラ(Cuscuta campestris Yuncker)を人工気象器内でシロ

- イヌナズナまたはタバコを宿主として寄生させ,生育,開花,採種させる実験系を確立し,純系統を確立することに成功した。この純系統を用いて全ゲノム約 53000 の 遺伝子モデルの解読を終えた(論文投稿準備中)。更に,吸器の形成の発生過程を追って組織特異的な遺伝子発現を RNAseq 法により包括のに解析して発現プロファイルデータベースを用いて残まりで成した。このデータベースを用いて、吸器形成時の各過程に係わる遺伝子の動態を解析し,吸器形成時の成長に核内倍加が関を解析し,吸器形成時の成長に核内倍加が関与し、その制御を担う遺伝子として CCS52A を同定した。また,吸器の道管分化に係わる一群の候補遺伝子を特定し,それらの機能の解析を進めた。
- (2)シロイヌナズナのXTHファミリーの中で進化的に基部に位置するサブファミリーに属する AtXTH3 の酵素機能を,組み換え蛋白質を用いて,酵素化学的に解析した結果,この酵素が非結晶性のセルロース微繊維をドナー基質として,それをアクセプター基質であるセルロースオリゴ糖に転移することを見出した。この酵素活性を申請者はCellulose Endo Transglycosidase(CET)と命名した。
- (3)共発現データの質の多角化を行い,信頼性を向上させた。大規模ファミリーの解析ツールを充実させて ATTED-II に実装した。更に,異種生物種間の共発現データの比較のための共発現指標の改良,サンプル分布比較法の開発を行ない,細胞壁合成遺伝子の共発現ネットワークが系統特異的に変化していることが検出可能になった。

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 33件)

- 1. <u>Shinohara, N.</u>, Sunagawa, N., Tamura, S., <u>Yokoyama, R.</u>, Ueda, M., Igarashi, K., <u>Nishitani,K.</u> (2017) The plant extracellular enzyme AtXTH3 catalyses covalent cross-linking between cellulose and cello-oligosaccharide, *Scientific Reports* 7: 46099 査読あり
- 2. Aoki, Y., Okamura, Y., Tadaka, S, Kinoshita, K, Obayashi, T. (2016) ATTED-II in 2016: a plant coexpression database towards lineage-specific coexpression. *Plant Cell Physiol.* 57, e5 査読あり
- 3. Yokoyama, R., Kuki, H., Kuroha, T., Nishitani, K. (2016) Arabidopsis regenerating protoplast: A powerful model system for combining the proteomics of cell wall proteins and the visualization of cell wall dynamics *Proteomes* 4: 34 査読あり
- 4. Kido, N., Yokoyama, R., Yamamoto, T.,

Furukawa, J., Iwai, H., Satoh, S., <u>Nishitani, K.</u> (2015) The matrix polysaccharide (1;3, 1;4)-β-D-glucan is involved in silicon-dependent strengthening of rice cell wall *Plant Cell Physiol*. 56: 268-276 査読あり

5. Narukawa, H., <u>Yokoyama, R.</u>, Komaki, S., Sugimoto, K., <u>Nishitani, K.</u> (2015) Stimulation of cell elongation by tetraploidy in hypocotyls of dark-grown Arabidopsis seedlings. *PLoS One* 10(8): e0134547. 査読あり

[学会発表](計 52件)

- 1. <u>篠原直貴</u>,砂川直輝,田村理,<u>横山隆亮</u>, 上田実,五十嵐圭日子,西谷和彦 XTHの新 規機能に基づく新しい植物細胞壁像 第58回 日本植物生理学会年会 「鹿児島大学(鹿児島 県・鹿児島市)」2017年3月16~18日
- 2. <u>Nishitani, K.</u> Rethinking the Mechanisms of Cell Wall Remodeling International Symposium on "Front Lines of Plant Cell Wall Research and Beyond" 「KKR 熱海(静岡県・熱海市)」2016年 10月 4~5日
- 3. <u>西谷和彦</u> 植物細胞壁の力学的ホットスポット 日本植物学会第 80 回大会 ,「沖縄コンベンションセンター(沖縄県・宜野湾市)」 2016 年 9 月 16~19 日
- 4. <u>Shinohara N.</u>, Sunagawa N., Igarashi K., Tamura S., <u>Yokoyama R.</u>, Ueda M., <u>Nishitani K.</u> XTH-mediated covalent-linking between cellulose and cellulose XIVth Cell Wall Meeting, 「八二ア(ギリシャ)」2016年6月12~17日
- 5. <u>Nishitani K.</u> Actions of XTH family of enzymes in construction and remodeling of the plant cell wall. 8th Plant Biomechanics International Conference 「名古屋大学(愛知県・名古屋市)」2015年11月30~12月4日
- 6. <u>Nishitani K.</u> Versatile roles of PME and pectin in plant development. XIII Cell Wall Meeting,「ナント(フランス)」2013年7月7~12日

[図書](計16件)

<u>西谷和彦</u>・島崎研一郎 (2017)テイツ・ザイ ガー 植物生理学・発生学 第6版(監訳) 講談社 823

加賀悠樹・柴田航希・鳴川秀樹・<u>横山隆亮</u>・ 西谷和彦(2016) 茎寄生植物ネナシカズラの 寄生戦略-茎寄生研究用のモデル植物を目指 す 遺伝 70:284-288

<u>西谷和彦(2016)</u> 従属栄養生物のさまざまな 生き方 遺伝 70:265-268

<u>篠原直貴・西谷和彦</u> (2016) 植物細胞壁実験

法 (pp.34-39, pp.191-195, pp.303-311) 弘 前大学出版会 403

<u>西谷和彦</u>・梅澤俊明 共編(2013)植物細胞 壁 講談社 349

[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]

- ・河北新報 科学の泉(6回続き)執筆 2015 年2月
- ・ホームページ等

領域 HP https://www.plantcellwall.jp/研究室 HP

http://www.biology.tohoku.ac.jp/lab-www /nishitani lab/

- 6.研究組織
- (1)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

(2)研究分担者

大林 武(OBAYASHI, Takeshi)

東北大学・大学院情報科学研究科・准教授

研究者番号:50397048

工藤 光子(KUDO, Mitsuko)

立教大学・理学部・准教授

研究者番号:90594078

(3)連携研究者

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

黒羽 剛(KUROHA, Takeshi)

東北大学・大学院生命科学研究科・助教

研究者番号:50415155

(4)研究協力者

無し