

令和 3 年 6 月 8 日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K16163

研究課題名(和文) 間隙発生の分子メカニズム解明および陸上植物における共通性と多様性の理解を目指して

研究課題名(英文) Analysis of molecular mechanisms of intercellular space formation in land plants

研究代表者

水谷 未耶 (Mizutani, Miya)

名古屋大学・理学研究科・研究員

研究者番号：90836280

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、陸上植物のガス交換組織として働く間隙が形成される際の分子機構を解明することを目的に研究を行ってきた。本研究では、いくつかの間隙形成変異体が取得され、原因遺伝子が明らかになりつつあり、それらと相互作用して働きうる因子の明らかになりつつある。さらに、間隙形成を制御する化合物のスクリーニング系が構築でき、因子の候補が取得できた。本研究成果は、植物にとって重要な組織であるガス交換組織の発生分子機構の全貌を明らかにするうえで重要な成果といえる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

植物のガス交換組織を構成する細胞間隙は、陸上環境への適応に不可欠であるとともに、その形態がガス交換効率に影響するため、植物の成長と密接にかかわっている。このような間隙の形成を制御する因子はこれまで陸上植物を通してほとんど明らかにされてこなかった。本研究成果によって、間隙形成を制御する因子やその経路の一端が明らかになりつつある。この成果を応用することによって植物のガス交換効率を上げるなど、農業への応用なども期待できる。

研究成果の概要(英文)：Intercellular spaces (ICs) are the gap inside plant tissues such as roots and leaves. ICs, which are often critical for gas exchange, also play an important role for water stress response. *Marchantia polymorpha* develops multilayered tissue units with a large IC, air chambers, on the dorsal surface of the thallus. In this study, I obtained several ICs deficient-mutants of *M. polymorpha* and identified the responsive genes for some of those mutants. I further explore the interacting factors for those proteins of interest. Moreover, I established the screening system for small compounds that affect ICs development, by which several candidate compounds were obtained. This study sheds new light on the molecular mechanism underlying the ICs development which is critical for plant terrestrialization.

研究分野：植物分子生物学

キーワード：形態形成 ガス交換 細胞壁 ゼニゴケ

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

約4億5千万年前に植物は陸上化を果たし、様々な仕組みを発達させることで陸上の厳しい環境に適応してきた。乾燥に適応するために表面積を減らして多層化した植物にとって、間隙は呼吸や光合成のための通気組織として重要な役割を担っている。被子植物の葉など、光合成を行う器官では、多層化した葉緑体を多く持つ細胞の間に間隙を形成している。表面はワックス層や表皮で乾燥から守られる一方、表面には孔(気孔)が存在し、植物体内部の間隙へ酸素や二酸化炭素を送ることでガス交換を効率化している。ガス交換の効率は光合成効率や植物のバイオマスに影響するため、間隙の発生については古くから形態学的な研究がなされてきた[1, 2]。海綿状組織については、細胞どうしの接着がはがれて間隙ができることが知られているが、発生に関する分子機構はほとんど分かっていない。

進化的に基部に位置する苔類でも多くの種が間隙として気室を、孔として気室孔を獲得している。気室の間隙は未分化な表皮層で細胞どうしの接着がはがれて形成され[3]、海綿状組織と同じタイプの間隙である。気室-気室孔は海綿状組織-気孔とは形態的に似ている「相似器官」であるとされてきたが[4]、発生の分子機構の共通性、進化的な位置づけなどはこれまで明らかされてこなかった。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、気室-気室孔と海綿状組織-気孔形成の分子機構を明らかにすること、両者を比較し、被子植物からコケ植物を貫く間隙形成の共通性と多様性を見出すことである。苔類ゼニゴケを材料として用い、順遺伝学的スクリーニング系を用いて制御因子の単離を行うとともに、間隙細胞系譜での免疫沈降法とタンパク質質量分析による単離した因子との相互作用因子の単離を行う。

### 3. 研究の方法

間隙形成を制御する因子を単離するために、ゼニゴケを用いて T-DNA タギング法と変異原(エチルメタンサルホン酸; EMS) 処理によるスクリーニングを行い、間隙である気室に異常が見られる変異体を単離する。ゼニゴケの気室形成の制御因子がシロイヌナズナの気孔や海綿状組織の形成に対してどのような機能を持つかを解析するために、単離した因子と相同性の高い因子のノックアウト株について気孔や海綿状組織の観察を行い、被子植物の間隙形成における機能を解析する。単離された制御因子について、新たな相互作用因子を単離するために免疫沈降法とタンパク質質量分析を行う。この際、ゼニゴケの気室形成において特に重要である初期間隙が形成されるメリステム付近の組織のみを免疫沈降に用いる。

### 4. 研究成果

順遺伝学的スクリーニングにより、間隙形成に異常がある変異体を複数取得できた。また、一部の因子は恒常発現型のプロモーター制御下で過剰発現することにより、気室の形成が阻害されることが確認された。また、気室の間隙に異常を示す化合物のスクリーニング系を構築し、候補化合物の絞り込みを行った。

既に得られた気室形成制御因子に改変 YFP タグを付加した配列を導入した植物体を作成し、気室の間隙を形成し始めるメリステム付近の組織を用いた免疫沈降法とタンパク質質量分析を行

った。植物体全体を用いて同様の解析を行った場合との比較も行った。その結果複数の候補因子が得られ、因子の一つでは気室や気室孔のパターンニングに異常を示す可能性が明らかとなった。

本研究成果は、植物にとって重要な組織であるガス交換組織の発生分子機構の全貌を明らかにするうえで重要な成果といえる。

<引用文献>

Jackson, M.B., and Armstrong, W. (1999) *Plant Biol.* 1: 274-287.

Evans D. E. (2004) *New Phytologist* 161: 35-49

Apostolakos et al.,(1982) *Protoplasma* 128: 120-135.

Shimamura, (2004), *Plant and Cell Physiology* 57: 236-256

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 水谷 未耶, 林 優紀, Christian Ganser, 内橋 貴之, 石崎 公庸, 西 浜 竜一, 木下 俊則, 河内 孝之, 東 山 哲也, 金岡 雅浩
2. 発表標題 E3リガーゼNOPPERAB01は細胞壁の再構築を介して陸上植物の通気組織形成を制御する
3. 学会等名 日本植物学会第83回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mizutani, M., Nakane, K., Tanaka S., You T., Okumura M., Inoue S., Ishizaki K., Kohchi T., Kinoshita T.
2. 発表標題 Analysis of the plasma membrane H <sup>+</sup> -ATPase in Liverwort <i>Marchantia polymorpha</i>
3. 学会等名 the International Marchantia Workshop 2019, (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mizutani, M., Hayashi, Y., Ishizaki, K., Nishihama, R., Kinoshita, T., Kohchi, T., Higashiyama T. & Kanaoka M. M.
2. 発表標題 PUB-ARM type E3 Ligase NOPPERAB01 Is Required for the Intercellular Space Formation via Cell Wall Remodeling in Land Plants
3. 学会等名 第61回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2019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
---------	---------