

機関番号：12102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2008～2010

課題番号：20770025

研究課題名(和文) 植物の発生に必須な細胞壁架橋ネットワーク関連遺伝子の同定と機能解明

研究課題名(英文) Functional analysis of the genes involved in cell wall network and development

研究代表者

岩井 宏暁 (Iwai Hiroaki)

筑波大学・大学院生命環境科学研究科・講師

研究者番号：30375430

研究成果の概要(和文)：

植物にとって 細胞壁の構成・構築は、様々な発生過程において必須であり、その構成は種や器官によっても様々である。またその細胞壁間の架橋には、細胞壁マトリックス多糖類が大きな役割を果たしていることが知られている。GRP を欠損変異体の調査を行った。OsGRP2 欠損変異体について調査を行った結果、栄養成長においては大きな差はなかったが、花粉粒が正常なものが得られず、また稔実率も22%程度に低下していた。葯について調査したところ、タペー組織形成に異常が生じていることが確認された。

研究成果の概要(英文)：

Plant cell walls contribute to the development and the functional specialization of cell types. It highly organized composite of many different polysaccharides, lignins and cell wall proteins. GRPs are thought to form a plate-like structure at the plasma membrane-cell wall interface. Then, we focused on highly expressed gene, *OsGRP2*, and analyzed the expression patterns and the mutant phenotypes. In the reproductive stage, although wild-type rice plants produced normal flower and seed, in *osgrp2* mutants, anther dehiscence did not occur in about 50% flowers and about 78% seeds stopped their development in early stage. These results suggest that *OsGRP2* might be important for the development of seed and anther.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2009年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：植物生理学

科研費の分科・細目：境界農学・応用分子細胞生物学

キーワード：細胞壁、ペクチン、ヘミセルロース、花、果実

## 1. 研究開始当初の背景

高等植物の発生過程には、細胞壁マトリックス糖鎖を介した細胞接着が様々な場面で要求され、またその細胞壁は生殖組織特有なものであることが知られている。しかし、その生合成メカニズムと機能に関する知見が極めて乏しく、特に単子葉植物の生殖組織における細胞壁はほぼ未開であるのが現状である。細胞壁遺伝子の発生過程における詳細なメカニズムと機能を明らかとすることで発生過程における役割を解明する。

## 2. 研究の目的

本研究は、植物の発生過程において細胞壁架橋ネットワークが果たす役割について明らかにすることを目的としている。我々が開発した培養系を用いる変異体作出系において、新たな発生過程に必須な細胞壁架橋ネットワーク関連遺伝子の同定を行うこと、また、現在までに同定が完了している細胞接着に重要なペクチン合成関連遺伝子の発現を調節することにより、発生過程におけるこれらの役割について明らかにすることを目的としている。

## 3. 研究の方法

変異体の細胞壁（ペクチン多糖など）の構造・特性の変異を解析する。時空間的な発現調査を行った後、糖鎖関連遺伝子の発現変化・調節が、細胞壁架橋ネットワークと発生・分化過程に与える影響を調査する。以上の研究を遂行することにより、高等植物の細胞壁架橋ネットワークの発生過程における役割を明らかにする。

## 4. 研究成果

植物にとって 細胞壁の構成・構築は、様々

な発生過程において必須であり、その構成は種や器官によっても様々である。またその細胞壁間の架橋には、細胞壁マトリックス多糖類が大きな役割を果たしていることが知られている。しかし、単子葉植物であるイネにおいてはこれらの機能についての知見は非常に少ない。それはイネの細胞壁が、シロイヌナズナ等を用いて研究が進んでいる双子葉植物とは大きく異なり、セルロース以外は質・量共に大きく異なるマトリックス多糖からなる細胞壁ネットワークを有していることも一つの要因であると言える。双子葉植物の主要な架橋性多糖はキシログルカンであるのに対し、イネ科ではキシランがその役割を果たしていることが考えられている。また、ペクチンについては双子葉植物が細胞壁中約 35%含有するのに対して、約 10%程度しか有していない。また、グリシンリッチプロテイン（GRP）等の細胞壁タンパク質についてはその存在量すらよくわかっていない。

私たちはキシランに関係したキシラナーゼ、アラビノフラノシダーゼの発現調節を行った。キシラナーゼ、アラビノフラノシダーゼ過剰発現させたイネでは、細胞壁多糖の生化学的分析を行った結果、キシランなどのヘミセルロース性成分が減少し、結晶性セルロース画分のグルコース量が増加したものが得られた。葉において、細胞壁の力学的強度測定を行った結果、セルロース成分の増加とリンクして強度が増加し折れにくくなっていることが示された。しかし、稔実率や生殖組織の形成といった生殖過程における影響は観察されなかった。またこれらでは、糖化量/効率の上昇が見られた。

また、GRP を欠損変異体の調査を行った。0sGRP2 欠損変異体について調査を行った結果、栄養成長においては大きな差はなかった

が、花粉粒が正常なものが得られず、また稔実率も22%程度に低下していた。

葯について調査したところ、タペート組織形成に異常が生じていることが確認された。

トマト果実の成熟過程に伴い、果皮ではペクチン等の細胞壁分解が生じているが、その果実内部では種子形成が同時に進行していることから、こういった組織では細胞壁の分解のみでなく合成も必要であると考えられる。本研究では、現在までに果実成熟過程におけるペクチンの合成・分解に関与する遺伝子発現および酵素活性が、果実内組織により異なることを示してきた。今回、そういった制御をうけたペクチンが実際どういった構造をしているかを調べるため、ペクチン量・構成糖分析およびメチル化度を果実内の5つの組織別に比較することで、組織により異なるペクチンの変化と機能を考察した。トマト果実ペクチンはほとんどが側鎖を持たないホモガラクトナンにより構成されていることがわかった。また、ペクチンメチル化度の変化はペクチンメチルエステラーゼ活性と関連し、果皮では成熟に伴い顕著に減少していた。組織切片を用いてペクチン染色を行った結果、外果皮と中果皮の間で成熟に伴い顕著に脱メチル化が進行することが示唆された。一方、種子周囲のゼリー状組織では60%程度のメチル化度が維持されていた。以上のことから、ペクチンの果実成熟過程における変化は組織ごとに多様であり、各組織の担う役割に応じた特異的な機能を持つことが予想された。またペクチンの機能はその量ではなく、メチル化度を含んだ多糖構造による物理的な特性に依存しているのではないかと考えられる。

本研究により、これまでの研究成果を紹介し、細胞壁マトリックス多糖類が植物の発生

にどのような機能を有しているかについて明らかとした。

## 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4件)

- 1, Fujita M, Horiuchi Y, Ueda Y, Mizuta Y, Kubo T, Yano K, Yamaki S, Tsuda K, Nagata T, Niihama M, Kato H, Kikuchi S, Hamada K, Mochizuki T, Ishimizu T, Iwai H, Tsutsumi N, Kurata N Rice Reproductive Expression Atlas: The Deepest Transcriptome Analysis In Reproductive Development Of Rice Plant &Cell Physiology、査読あり、vol 51、2010、pp2061-2081
- 2, Sato Y, Yazawa K, Yoshida S, Tamaoki M, Nakajima N, Iwai H, Ishii T, and Satoh S Expression and functions of myo-inositol monophosphatase family genes in seed development of Arabidopsis. J. Plant Research、査読あり、vol124、2010、pp385-394
- 3, Konishi T, Miyazaki Y, Yamakawa S, Iwai H, Satoh S, Ishii T\* Purification and Biochemical Characterization of Recombinant Rice UDP-Arabinopyranose Mutase Generated in Insect Cells **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry** 査読あり 74, 191-194(2010)
- 4, Suda N, Iwai H, Satoh S\*, Sakai S Benzyladenine arrests cell cycle progression in G1 phase in tobacco BY-2 cells preceding induction of cell death **Plant Biotechnology** 26, 225-235(2009) 査読あり

[学会発表] (計31件)

- 1、武部尚美, 中村敦子, 住吉美奈子, 古川純, 佐藤忍, 岩井宏暁 タペータム形成に重要なイネの細胞壁タンパク質・グリシンリッチプロテインの解析、第52回植物生理学年会 2011年3月21日 東北大学
- 2、青原勉, 古西智之, 伊ヶ崎知弘, 林徳子, 宮崎安将, 高橋章, 廣近洋彦, 岩井宏暁, 石

- 井忠 イネ細胞壁の L-アラビノフラノース残基 は、植物の生長と生殖に関与する、第 5 2 回植物生理学会年会 2011 年 3 月 2 1 日 東北大学
- 3、寺尾梓, 古川純, 佐藤忍, 岩井宏暁 トマトの落花・落果期における離層の細胞壁多糖分布変化、第 5 2 回植物生理学会年会 2011 年 3 月 2 1 日 東北大学
- 4、兵頭洋美, 寺尾梓, 古川純, 佐藤忍, 岩井宏暁 トマト果実成熟過程におけるペクチン-Ca 架橋による組織特異的な物性の変化、第 5 2 回植物生理学会年会 2011 年 3 月 2 1 日 東北大学
- 5、和田加奈子・兵頭洋美・寺尾梓・古川純・佐藤忍・岩井宏暁 各成熟段階のトマト果実からアスコルビン酸により可溶化される細胞壁ペクチンの組織別分析、平成 22 年度園芸学会秋季大会 2010 年 9 月 2 0 日、大分大学
- 6、兵頭洋美・古川純・佐藤忍・岩井宏暁 ナス科果実の類似組織における果実成熟に伴うペクチン分解関連酵素活性の比較、平成 22 年度園芸学会秋季大会 2010 年 9 月 2 0 日、大分大学
- 7、住吉 美奈子, 中村 敦子, 古川 純, 石井 忠, 佐藤 忍, 岩井 宏暁 アラビノフラノシダーゼ遺伝子過剰発現イネの表現型解析 日本植物学会第 7 4 回大会、2010 年 9 月 10 日、中部大学
- 8、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 7 4 回大会、2010 年 9 月 10 日、中部大学
- 9、寺尾 梓, 兵頭 洋美, 古川 純, 佐藤忍, 岩井 宏暁 トマトの子房から果実への変遷期における細胞壁 多糖分布の変化 日本植物学会第 7 4 回大会、2010 年 9 月 10 日、中部大学
- 1 0、兵頭 洋美, 寺尾 梓, 古川 純, 佐藤忍, 岩井 宏暁 トマト果実成熟過程における組織特異的なペクチン構成糖とメチル化度の変化、日本植物学会第 7 4 回大会、2010 年 9 月 10 日、中部大学
- 1 1、本多秀行, 小西照子, 石井忠, 佐藤忍, 岩井宏暁 タバコの成長過程におけるアラビノース糖鎖合成関連遺伝子の機能解明. 日本植物生理学会第 51 回大会 2010 年 3 月 1 9 日 熊本大学
- 1 2、Iwai H, Nakamura A, Satoh J, Frukawa J, Ishii T, and Satoh S Expression and functions of cell wall matrix genes in tobacco and rice. **The 5<sup>th</sup> Germany-Japan Binational Seminar From Photoreaction to Biomass: Phototrophs in Ecosystems and Biotechnology** 7 June, 2009 つくば国際会議場
- 1 3、佐藤淳也, 中村敦子, 古川純, 石井忠, 佐藤忍, 岩井宏暁 ポリガラクトソナーゼ遺伝子を過剰発現させたイネの表現型解析. 日本植物学会第 7 3 回大会 2009 年 9 月 1 8 日 山形大学
- 1 4、兵頭洋美, 佐藤忍, 岩井宏暁 トマト果実成熟過程におけるペクチン合成および分会関連遺伝子の組織別発現解析. 日本植物学会第 7 3 回大会 2009 年 9 月 1 8 日 山形大学
- 〔図書〕(計 1 件)  
岩井宏暁 “科学者はなぜどのように論文を書くのか”, 査読有り “研究者・学生のためのテクニカルライティング”, 医学評論社, 2009, pp96-105
- 〔その他〕  
ホームページ等  
<http://www.biol.tsukuba.ac.jp/~plphys/iwaihomepage/hiroiwaiindex.html>
6. 研究組織  
(1) 研究代表者  
岩井宏暁 (IWAI HIROAKI)  
筑波大学・大学院生命環境科学研究科・講師  
研究者番号 : 30375430