

令和 6 年 5 月 24 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21H02516

研究課題名(和文)植物の多細胞化に重要な構造・原形質連絡の形成に関わる分子基盤の解明とその進化

研究課題名(英文)Molecular Basis Involved in the Formation of Plasmodesmata, Crucial Structures for Plant Multicellularity

研究代表者

藤田 知道(FUJITA, Tomomichi)

北海道大学・理学研究院・教授

研究者番号：50322631

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,600,000円

研究成果の概要(和文)：植物の細胞間コミュニケーションに不可欠な構造として原形質連絡(PD)が古くより知られている。しかしPDがどのように作られるのか、またPDの構造や密度の制御など、これらに関わる分子制御基盤はまだ多くの点で解明されていない。本研究では、多細胞性を失ったコケ植物(ヒメツリガネゴケ)の変異株や植物ホルモンであるアブシジン酸により誘導されるBrood cellのそれぞれにおいてPDの密度が半分以下に低下しているということに着目し、その分子制御機構の一端を明らかにした。またこの分子基盤がシャジクモ藻から陸上植物を含むストレプト植物全体で普遍的であるかどうかを考察した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

植物の細胞間コミュニケーションに不可欠な細胞壁にあるナノサイズの構造として原形質連絡(PD)の存在が19世紀後半に初めて提唱された。その後、1960年前後になりこの構造は電子顕微鏡で広く陸上植物等に存在することが確認されたが、PDがどのように形作られ、またその密度がどのように制御されるかなどに関わる分子制御基盤はまだ多くの点で解明されていなかった。本研究によりこの一端の仕組みを明らかにすることができた。したがって学術的意義は極めて高い。

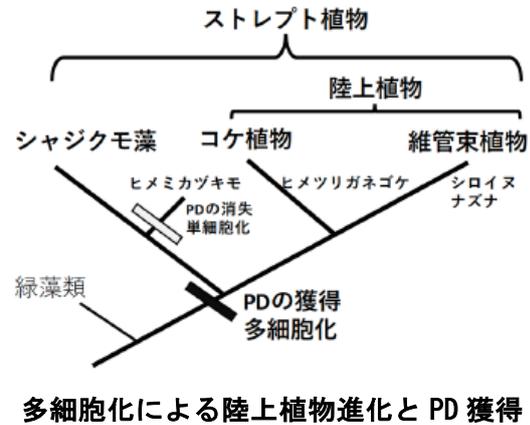
研究成果の概要(英文)：Plasmodesmata (PD) have long been known as essential structures for intercellular communication in plants. However, the molecular mechanisms underlying the formation of PD, as well as the regulation of their structure and density, remain largely unknown. In this study, we focused on the study that PD density is reduced by more than half in mutants of the moss *Physcomitrium patens*, which have lost multicellularity, and in brood cells induced by the plant hormone abscisic acid. We elucidated part of the molecular regulatory mechanism involved in this process. Additionally, we provided an insight whether this molecular basis is conserved across streptophytes, including both charophyte algae and land plants.

研究分野：植物生理学

キーワード：植物細胞間コミュニケーション アブシジン酸 原形質連絡密度

1. 研究開始当初の背景

植物の細胞壁にある小さな穴構造として原形質連絡(PD)の存在が1879年に初めて報告された。その後、1960年前後になりこの構造は電子顕微鏡で広く陸上植物やその姉妹植物群であるシャジクモ藻類に存在することが確認された。このようにPDはシャジクモ藻類と陸上植物を合わせたストレプト植物に広く存在し、これら植物の細胞間コミュニケーションに不可欠な構造であり、これらの多細胞体制の進化になくはならない構造であると考えられてきた(図)。しかしPDの発見から今日に至るまでPDがどのように形作られ、その密度がどのように制御されるのか、また細胞間コミュニケーションや多細胞体制の統制や進化にどのように重要であるのかに関わる分子基盤についてはまだ多くの点で理解が及んでいない。



PDは同じ多細胞生物である動物には存在せず、植物に特有でありPDによる細胞間コミュニケーションの確立とその分子制御基盤の理解は動物と植物という大型多細胞生物の進化とその仕組みを考える上でも重要な課題である。植物でPDの形成や制御の分子機構の解明が遅れている原因として、主に2つの問題点が考えられてきた。1つ目は、PDは1個体のほぼ全ての細胞に存在し、その発生や生存に必須であるため、PDを喪失するような突然変異株は致死となり単離が不可能か極めて困難なことである。2つ目は、PDの研究は細胞レベルでの観察が不可欠な点である。しかし、3次元かつ複雑な多細胞体制の維管束植物には多様な細胞が混在しており、シロイヌナズナのようなモデル被子植物においても、PDの形成や制御を分子細胞レベルで定量的にかつ高精度に研究することは難しい

2. 研究の目的

そこで本研究ではPD研究におけるこれらの困難を克服するため、モデルコケ植物であるヒメツリガネゴケの原系体に注目し光変換型蛍光タンパク質を利用したPD制御の研究を実施する。そして(1)ヒメツリガネゴケにおいて1次PD形成の分子基盤の解明を目指す。また(2)この分子基盤が被子植物や陸上植物の祖先群であるシャジクモ藻でも機能するのかを調べ、ストレプト植物全体におけるPD形成の分子基盤の普遍性を考察し、PD形成と多細胞性の進化について分子レベルでの理解を大きく前進させることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 1次PD形成に関わる2種類の変異株に関わる因子

1次PD形成に関わると考えられるヒメツリガネゴケ変異株2種類を入手している。これら変異株に着目し、この原因遺伝子が1次PD形成を制御することを明らかにする。またこれら2種類と同じ分子制御系で働く因子を選抜し、これら関連因子も1次PDの形成に関係するのかを明らかにする。またどのようにこれら因子がPD形成に関わるのかも分子生物学的手法、細胞生物学的手法などにより調査する。そしてPD形成過程の詳細な観察結果とともにPD形成の分子基盤に関する新しい仮説を提唱する。

(2) アブシジン酸による PD 形成の関与の調査

植物ホルモンであるアブシジン酸 (ABA) 処理により誘導される Brood cell において、それぞれ PD の密度が半分以下に低下していることに気がついた。この予備的観察を再検証に、この制御に関わる ABA 制御因子を調べ、明らかにする。また ABA はストレスホルモンであることから ABA 以外に環境ストレスを与えることにより ABA 添加と同様に PD の密度低下が起こるかどうかを調べ、一般に環境ストレスがストレス依存的かつ ABA 情報伝達経路依存的に PD 形成 (密度) に関わるかどうかを明らかにする。

(3) PD 研究に化合物スクリーニング (ケミカルスクリーニング) の適用

PD 変異株の致死性の問題を回避するため、任意の時に薬剤処理でき、かつ機能重複したタンパク質に同時に作用し得る化合物スクリーニングの利点をヒメツリガネゴケの PD 研究に応用し突破口を開く。そしてこの方法により ABA による 1 次 PD 形成の制御とは別の制御機構の存在の可能性を調査し、存在するならばその分子実態の解明に迫る。

(4) ストレプト植物における PD 形成の分子基盤の普遍性とその進化

PD 形成特に 1 次 PD 形成に関わる上記 (1) ~ (3) の分子制御系のそれぞれについて、同様な制御経路がシロイヌナズナおよびジャジクモ藻類に保存され機能するのかを調査し、ストレプト植物全体における PD 形成の分子基盤の普遍性と多細胞化について考察する。

4. 研究成果

(1) 1 次 PD 形成に関わる 2 種類の変異株に関わる因子

1 次 PD 形成に関わると考えられるヒメツリガネゴケ変異株 2 種類について、この原因遺伝子が 1 次 PD 形成を制御することかどうかを、電子顕微鏡や PD を可視化する蛍光色素を用いた生体染色などにより詳しく観察した。その結果、この 2 種類の遺伝子産物は細胞分裂時に形成される 1 次 PD の密度制御に重要な働きをしていることが明らかになった。またこの因子を活性化する因子、不活性化する因子、その下流で機能する複数の因子も 1 次 PD の形成 (密度制御) に関わることを明らかにすることができた。一連のこの分子制御系が PD の密度制御に関わることは初めての知見であり、学術的意義の大きな研究成果になると考えられた。今後は、これら分子制御経路によりどのような仕組みで PD 形成時に PD 密度が調整されるのかに迫る研究展開が期待できる。

(2) アブシジン酸による PD 形成の関与の調査

植物ホルモンであるアブシジン酸 (ABA) 処理により誘導される Brood cell において、それぞれ PD の密度が半分以下に低下しているというこれまでの予備的観察を追試し、ABA が細胞分裂次に形成される 1 次 PD の密度を抑制することを明らかにすることができた。さらにこの PD 密度抑制制御に ABA 情報伝達系のコアモジュールが重要な役割を果たしており、その下流で機能する転写因子を特定することができた。さらに ABA 以外に浸透圧ストレスを与えることにより ABA 添加と同様に PD の密度低下が起こることを明らかにすることができた。浸透圧ストレスによる PD 密度低下も ABA シグナル伝達系を介していると考えられ、ヒメツリガネゴケでは、環境ストレス下において PD 密度を下げ、細胞間コミュニケーションを抑制すると考えられた。またストレスがなくなり通常的环境になると、新しくできる細胞壁において作られる PD の密度も通常に戻ることがわかった。この成果は外部環境依存的に ABA 情報伝達経路を介した PD 密度制御による細胞間コミュニケーション制御の仕組みがコケ植物で備わっていることを明らかにするものであった。現在論文を投稿中である。また本成果は (1) の成果

とどのように関係するのか、現在さらに両者の関係の有無等について新しく研究を進展させている。

（３）PD 研究に化合物スクリーニング（ケミカルスクリーニング）の適用

PD 変異株の致死性の問題を回避するため、化合物スクリーニングを実施し、ABA 非依存的に PD を介した細胞間コミュニケーションの制御に関わる分子制御系の存在の有無を調査した。その結果少なくとも 2 つの有望な化合物と一定程度目的に合致した効果を示す化合物 1 種類の同定に成功した。これら化合物の標的を探索するための誘導化合物の合成を試みたが、その過程で不純物の混合や活性の低下などが観察され、現時点ではこの化合物の標的の探索の途中段階にある。今後は新しい誘導化合物の合成方法の検討や別の方法による標的の探索方法を検討し、ABA 非依存的な 1 次 PD 形成の制御の分子実態解明に迫りたい。

（４）ストレプト植物における PD 形成の分子基盤の普遍性とその進化

PD 形成特に 1 次 PD 形成に関わる上記（１）～（３）の分子制御系のそれぞれについて、同様な制御経路がシロイヌナズナおよびシャジクモ藻類に保存され機能するのかをヒメツリガネゴケオルソログの存在を探索することにより調査した。その結果、（１）の経路はストレプト植物全体に存在していることがわかった。一方（２）については一部のシャジクモ藻類を除く大部分には存在せず、コケ植物、シダ植物、種子植物には普遍的の存在していると考えられた。したがって、（２）の PD 密度抑制制御系は水中環境に比べ変動の激しい陸上環境への適応戦略の 1 つとして用いられている可能性が考えられた。ヒメツリガネゴケを用いた本研究結果から植物の多細胞化と PD 形成の鍵を握る（１）の制御系との関係は、引き続きシャジクモソウ類での研究を継続する必要がある。

以上のように本研究により、多細胞化に重要な細胞間コミュニケーションのナノ構造である PD 形成、特に PD の密度制御の分子基盤の一端を初めて明らかにすることができた。本成果の創造性は高く、学術的意義も極めて高いものとなっている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Marcel Pascal Beier, Chiyo Jinno, Natsumi Noda, Kohei Nakamura, Sumio Sugano, Yutaka Suzuki, Tomomichi Fujita	4. 巻 14
2. 論文標題 ABA signaling converts stem cell fate by substantiating a tradeoff between cell polarity, growth and cell cycle progression and abiotic stress responses in the moss <i>Physcomitrium patens</i>	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Frontiers in Plant Science	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fpls.2023.1303195	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Ooi Kock Teh, Prerna Singh, Junling Ren, Lin Tzu Huang, Menaka Ariyaratne, Benjamin Prethiviraj Salamon, Yu Wang, Toshihisa Kotake, Tomomichi Fujita	4. 巻 149
2. 論文標題 Surface-localized glycoproteins act through class C ARFs to fine-tune gametophore initiation in <i>Physcomitrium patens</i>	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Development	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1242/dev.200370	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Akihiko Hiroguchi, Kohei Nakamura, Tomomichi Fujita	4. 巻 39
2. 論文標題 Abscisic acid switches cell division modes of asymmetric cell division and symmetric cell division in stem cells of protonemal filaments in the moss <i>Physcomitrium patens</i> .	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Plant Biotechnology	6. 最初と最後の頁 13-17
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.5511/plantbiotechnology.22.0107a	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 3件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 神野智世、橋本悟史、藤田知道
2. 発表標題 アブジジン酸と細胞間コミュニケーション、細胞運命制御の出会い
3. 学会等名 日本植物学会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Chiyo Jinno, Ken Fujisaki, Izumi Yotsui, Motoki Ouchi, Satoshi Naramoto, Daisuke Takezawa, Yoichi Sakata and Tomomichi Fujita
2. 発表標題 Abscisic acid signaling controls density of primary plasmodesmata in the moss <i>Physcomitrium patens</i>
3. 学会等名 日本植物生理学会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Tomomichi Fujita, Munenori Kitagawa, Takumi Tomoi, Kensuke Kawade, Chiyo Jinno
2. 発表標題 Environmental fluctuation and regulation of intercellular communication in the moss, <i>Physcomitrium patens</i>
3. 学会等名 The 33rd International Conference on Arabidopsis Research (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 神野智世、榎本悟史、藤田知道
2. 発表標題 アブシジン酸と細胞間コミュニケーション、細胞運命制御の出会い
3. 学会等名 日本植物学会 (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 神野智世、榎本悟史、藤田知道
2. 発表標題 ヒメツリガネゴケにおけるアブシジン酸シグナル経路を介した原形質連絡の密度制御
3. 学会等名 日本植物学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 神野智世、藤田知道
2. 発表標題 アブシジン酸はヒメツリガネゴケにおいて原形質連絡の形成を抑制する
3. 学会等名 日本植物生理学会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計6件

1. 著者名 藤田知道	4. 発行年 2023年
2. 出版社 北隆館	5. 総ページ数 94
3. 書名 コケ分子生物学を用いたSDGsへの取り組み	

1. 著者名 神野智世、藤田知道	4. 発行年 2022年
2. 出版社 北隆館	5. 総ページ数 92
3. 書名 環境ストレスにより新生するコケ植物の幹細胞	

1. 著者名 神野智世、藤田知道	4. 発行年 2022年
2. 出版社 ニューサイエンス社	5. 総ページ数 66
3. 書名 コケ植物の幹細胞新生にみるアブシジン酸を用いたしなやかな生存戦略	

1. 著者名 Takumi Tomoi, Yoan Coudert, Tomomichi Fujita	4. 発行年 2022年
2. 出版社 Springer Nature	5. 総ページ数 470
3. 書名 Plasmodesmata	

1. 著者名 Arthur Muller, Tomomichi Fujita, Yoan Coudert	4. 発行年 2022年
2. 出版社 Springer Nature	5. 総ページ数 470
3. 書名 Plasmodesmata	

1. 著者名 神野 智世・藤田 知道	4. 発行年 2022年
2. 出版社 ニュー・サイエンス社	5. 総ページ数 66
3. 書名 月刊「細胞」2022年5月号	

〔産業財産権〕

〔その他〕

https://www.sci.hokudai.ac.jp/PlantSUGO1ne/

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
研究協力者	榎本 悟史 (Naramoto Satoshi)		
研究協力者	佐藤 綾人 (Satoh Ayato)		
研究協力者	鄭 惠國 (Teh Ooi-Kock)		

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