

令和元年6月25日現在

機関番号：23803

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2014～2018

課題番号：26711017

研究課題名(和文)植物核のダイナミクスを担う分子機構

研究課題名(英文)Nuclear dynamics in plants

研究代表者

田村 謙太郎 (Tamura, Kentaro)

静岡県立大学・食品栄養科学部・准教授

研究者番号：40378609

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 18,600,000円

研究成果の概要(和文)：植物の柔軟な環境応答能は遺伝情報発現の場である細胞核によって支えられている。本計画では、植物の生存戦略の理解のために細胞核のダイナミクスに着目して研究展開した。特に、1)細胞核の運動機構、2)核膜構造の分子基盤、3)植物免疫における核膜孔複合体の役割に焦点を絞った。遺伝学、イメージング、プロテオミクスを利用した多面的な研究アプローチを行うことで、植物は進化の過程で他生物では見られない非常に複雑なシステムを獲得して、核のダイナミクスを支えていることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで殆ど共通理解の得られていなかった植物細胞核の形成運動機構について分子レベルでの解析を行った。特に高等植物が独自に持つ高い環境応答能を支える上で重要な分子機構に着目して研究をおこなった。特に、病原体からの防御、紫外線からのDNA保護、そして植物の成長を支えるために必須な核自身の形成機構を明らかにすることができた。これらは植物が固着生活を営む上で独自に手に入れたユニークな生存戦略の一つと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Nucleus is most distinctive and important organelles for all eukaryotes. It plays a key role in maintenance and inheritance of genetic materials. In plants, it has been reported that nuclei vary their size and shape during cellular development and move very actively in response to environmental signal. However, little is known about the mechanisms underlying plant nuclear dynamics. In this study, we focused following projects; 1) nuclear movement in response to light, 2) molecular mechanisms underlying formation of nuclear envelope, 3) nuclear pore-mediated defense against pathogens. By combining different approaches including, genetics, imaging, and proteomics, we revealed molecular mechanisms of plant nuclear dynamics. We found that plants have unique systems supporting nuclear dynamics for response to environmental stimuli.

研究分野：植物細胞生物学

キーワード：細胞核 核の運動 シロイヌナズナ 環境応答

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

植物細胞核のダイナミクスを担う形成や運動に関する分子機構は他生物とは異なることが示唆されていた。このことは、他生物と比較した相同性を用いた解析が非常に困難であることを示す。結果として、本研究開始当初は、植物の細胞核の構造や機能に関する共通理解は得られていなかった。一方で、申請者はアナロジーに頼らずに、プロテオミクスおよび分子遺伝学的手法を用いて核ダイナミクスを支える分子の同定を試みはじめていた。

2. 研究の目的

申請者はこれまでシロイヌナズナを用いて、細胞核の構造や運動が異常になった複数の突然変異体系統を単離してきた。変異体の表現型解析および原因遺伝子の同定を通じて、植物の細胞核ダイナミクスには当初の予想を遥かにこえる多くの因子が複合的に機能している可能性が見えてきた。本研究では、植物の柔軟な環境応答を支えるための細胞核の運動・形成機構を決定する分子の同定とそれら分子の関連性の統合的理解を目指すことを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 明暗条件下に応答した細胞核運動の分子機構

植物の細胞核は環境シグナルに応答して細胞内を活発に動く。申請者はこれまでの研究により、この細胞核の運動は植物特異的なモーター分子である myosin XI-i アクチンシステムによって駆動されていることを明らかにしてきた (Current Biology 2013)。そこで本研究では、この myosin XI-i-アクチンシステムを制御する分子機構を明らかにする目的で、核運動不全変異体の探索を行った。

(2) 核膜構造の分子基盤

核膜は物理的なバリアーとしての役割だけでなく、核自身の機能発現の重要な場を提供していることが知られている。しかしながら、植物細胞においてどのような分子が核膜形成に関与しているかは明らかになっていない。そこで、細胞核の形態異常を示す変異体を単離し、長らく未知であった植物の核膜形成機構の解明をめざす。

(3) 植物免疫における核膜孔複合体の役割

核膜孔複合体は核と細胞質間の唯一の通り道を形成しており、様々な分子交通を厳密に制御するタンパク質複合体である。申請者は核膜孔複合体欠損株を用いた予備的解析から、植物の防御遺伝子の発現が核膜孔によって制御されていることを発見した。そこで、核膜孔複合体が具体的に植物の防御応答のどのステップを制御しているかを逆遺伝学的手法により明らかにする。

4. 研究成果

(1) 明暗条件下に応答した細胞核運動の分子機構

植物細胞の核は外部からの青色光に応答して運動することが知られている。しかしながら、この運動の生体内における役割は不明であった。そこで生理学的解析を行ったところ、この運動は UV によって誘導される DNA 損傷を防ぐためであることを明らかにした (Plant Physiology 2016)。青色光照射により細胞核は細胞壁側面に定位し、受光面積をできるだけ少なくすることで内部の DNA を保護していることが示唆された。つぎに、この定位運動の分子機構をさぐるために定位運動不全変異体を 2 系統単離してそれぞれ un_p1 および un_p2 変異体と名付けた (Plant Physiology 2019)。原因遺伝子を同定したところ、un_p1 は ANGUSTIFOLIA を、un_p2 は ACTIN7 をコードする遺伝子であった。どちらの変異体も細胞内のアクチン繊維の構造が異常になっていた。相互作用解析により ANGUSTIFOLIA はリン酸化酵素 DYRK_P と相互作用していることが明らかとなった。DYRK_P の特異的な阻害剤は核の定位運動を阻害した。以上の結果から、ANGUSTIFOLIA-DYRK_P 複合体がアクチン繊維の構造を調整することで核の定位運動を制御している新しい分子機構を明らかにした。

(2) 核膜構造の分子基盤

植物細胞における核膜の形成を担う分子を単離するために、核膜構造が異常になった *kaku2* および *kaku4* 変異体を単離した。これらの変異体では野生型と比較して核がより小型かつ球形になっていた (Plant Cell 2014)。原因遺伝子を同定したところ、*kaku2* 変異体は既知の CRWN1 を *kaku4* の原因遺伝子は機能未知の KAKU4 をコードする遺伝子であった。CRWN1 は長いコイルドコイル領域をもつ核膜タンパク質で、植物の核ラミナ構造を形成する因子であることが示唆されていた。一方で機能未知の KAKU4 は種子植物にのみ保存された因子で核内膜に特異的に局在することを明らかにした。興味深いことに KAKU4 の過剰発現は核膜変形を引き起こすことがわかった。酵母ツーハイブリッド法および免疫沈降法により KAKU4 と CRWN1 は複合体を形成していることを示した。以上の結果より、植物の核膜は CRWN1 および KAKU4 を足場としていることが示唆された。動物ではラミンタンパク質とよばれる中間径フィラメントが核膜の裏打ち構造になっているが、植物では CRWN1-KAKU4 複合体を介した独自の機構で核膜形成が担われていることを本研究で明らかにした。

(3) 植物免疫における核膜孔複合体の役割

Nup136 と Nup82 は植物特異的な核膜孔複合体因子である。植物の環境応答におけるこれらタンパク質の役割を明らかにする目的で、nup136 nup82 シロイヌナズナ二重変異体を単離した (Nucleus 2017)。この変異体は成長不良、花成促進、稔性低下といった多面的な表現型を示した。比較トランスクリプトーム解析を行ったところ、変異体では、多くの防御遺伝子の発現が顕著に抑えられていた。この変異体における防御遺伝子群は病原菌接種 (Pseudomonas) または植物ホルモンサリチル酸処理を行っても発現誘導を行うことが出来なかった。病原菌 Pseudomonas への抵抗性がサリチル酸存在化および非存在化において顕著に低下していた。このことはシロイヌナズナ Nup136 および Nup82 核膜孔複合体因子は、サリチル酸の感受またはその下流シグナリングに関与していることを示している。一方、*Nicotiana Benthamiana* を用いたサイレンシング系統の解析により核膜孔複合体の別の構成因子 Nup75 がエチレンシグナルを介したファイトアレキシン産生および *Phytophthora infestans* への抵抗反応に重要であることも明らかにした (Molecular Plant-Microbe Interactions 2014)。以上の結果から、植物は核膜孔を介した多岐にわたる防御応答のシステムを備えていることが示された。

<引用文献>

Kosei Iwabuchi, Haruna Ohnishi, Kentaro Tamura, Yoichiro Fukao, Tomoyuki Furuya, Koro Hattori, Hirokazu Tsukaya, Ikuko Hara-Nishimura
ANGUSTIFOLIA Regulates Actin Filament Alignment for Nuclear Positioning in Leaves
Plant Physiology, Vol. 179, 2018, 233-247

Kosei Iwabuchi, Jun Hidema, Kentaro Tamura, Shingo Takagi, Ikuko Hara-Nishimura
Plant nuclei move to escape ultraviolet-induced DNA damage and cell death
Plant Physiology, Vol. 170, 2016, 678-685

Chieko Goto, Kentaro Tamura, Yoichiro Fukao, Tomoo Shimada, Ikuko Hara-Nishimura
The novel nuclear envelope protein KAKU4 modulates nuclear morphology in Arabidopsis
Plant Cell, Vol. 25, 2014, 4658-4675

Kentaro Tamura, Yoichiro Fukao, Noriyuki Hatsugai, Fumiaki Katagiri, Ikuko Hara-Nishimura

Nup82 functions redundantly with Nup136 in a salicylic acid-dependent defense response of Arabidopsis thaliana
Nucleus, Vol. 8, 2017, 301-311

Mina Ohtsu, Yusuke Shibata, Makoto Ojika, Kentaro Tamura, Ikuko Hara-Nishimura, Hitoshi Mori, Kazuhito Kawakita, and Daigo Takemoto
Nucleoporin 75 Is Involved in the Ethylene-Mediated Production of Phytoalexin for the Resistance of Nicotiana benthamiana to Phytophthora infestans
Molecular Plant-Microbe Interactions Journal, Vol. 27, 2014, 1318-1330

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 22 件)

Chieko Goto, Shoko Hashizume, Yoichiro Fukao, Ikuko Hara-Nishimura, Kentaro Tamura
Comprehensive nuclear proteome of Arabidopsis obtained by sequential extraction,
Nucleus, 査読有り, Vol. 10, 2019, 81-92

DOI: 10.1080/19491034.2019.1603093

Kazuki Maeda, Tdashi Kunieda, Kentaro Tamura, Kyoko Hatano, Ikuko Hara-Nishimura, Tomoo Shimada

Plant and Cell Physiology, 査読有り, Vol. 60, 2019, 1296-1303

DOI: 10.1093/pcp/pcz047.

Akiko Nakazaki, Kenji Yamada, Tdashi Kunieda, Ryosuke Sugiyama, Masami Hirai Yokota, Kentaro Tamura, Ikuko Hara-Nishimura, Tomoo Shimada

Leaf Endoplasmic Reticulum Bodies Identified in Arabidopsis Rosette Leaves Are Involved in Defense against Herbivory

Plant Physiology, 査読有り, Vol. 179, 2019, 1515-1524

DOI: 10.1104/pp.18.00984

Kazuya Ishikawa, Kentaro Tamura, Tomoo Shimada

Subcellular localisation of an endoplasmic reticulum-plasma membrane tethering factor, SYNAPTOTAGMIN 1, is affected by fluorescent protein fusion

Plant Signaling & Behavior, 査読有り, Vol. 13, 2018, e1547577

DOI: 10.1080/15592324.2018.1547577

Kosei Iwabuchi, Haruna Ohnishi, Kentaro Tamura, Yoichiro Fukao, Tomoyuki Furuya, Koro Hattori, Hirokazu Tsukaya, Ikuko Hara-Nishimura

ANGUSTIFOLIA Regulates Actin Filament Alignment for Nuclear Positioning in Leaves

Plant Physiology, 査読有り, Vol. 179, 2018, 233-247
DOI: 10.1104/pp.18.01150
Axel Poulet, Xiao Zhou, Kentaro Tamura, Iris Meier, Christophe Tatout, Katja Graumann, David Evans
Computational Methods for Studying the Plant Nucleus
Methods in Molecular Biology, 査読有り, Vol. 1840, 2018, 205-219
DOI: 10.1007/978-1-4939-8691-0_15
Kazuya Ishikawa, Kentaro Tamura, Haruko Ueda, Yoko Ito, Akihiko Nakano, Ikuko Hara-Nishimura, Tomoo Shimada
Synaptotagmin-Associated Endoplasmic Reticulum-Plasma Membrane Contact Sites Are Localized to Immobile ER Tubules
Plant Physiology, 査読有り, Vol. 178, 2018, 641-653
DOI: 10.1104/pp.18.00498
Tomoo Shimada, Tadashi Kunieda, Sakura Sumi, Yasuko Koumoto, Kentaro Tamura, Kyoto Hatano, Haruko Ueda, Ikuko Hara-Nishimura
Plant and Cell Physiology, 査読有り, Vol. 59, 2018, 2331-2338
DOI: 10.1093/pcp/pcy158
Haruko Ueda, Natsumi Ohta, Yoshitaka Kimori, Teruka Uchida, Tomoo Shimada, Kentaro Tamura, Ikuko Hara-Nishimura
Endoplasmic Reticulum (ER) Membrane Proteins (LUNAPARKs) are Required for Proper Configuration of the Cortical ER Network in Plant Cells
Plant and Cell Physiology, 査読有り, Vol. 59, 2018, 1931-1941
DOI: 10.1093/pcp/pcy137
Kentaro Tamura, Yoichiro Fukao, Noriyuki Hatsugai, Fumiaki Katagiri, Ikuko Hara-Nishimura
Nup82 functions redundantly with Nup136 in a salicylic acid-dependent defense response of Arabidopsis thaliana
Nucleus, 査読有り, Vol. 8, 2017, 301-311
DOI: 10.1080/19491034.2017.1279774
Xiao Zhou, Kentaro Tamura, Katja Graumann, Iris Meier
Exploring the Protein Composition of the Plant Nuclear Envelope
Methods in Molecular Biology, 査読有り, Vol. 1411, 2016, 45-66.
DOI: 10.1007/978-1-4939-3530-7_2
Kentaro Tamura, Takanori Kawabayashi, Toshiharu Shikanai, Ikuko Hara-Nishimura
Decreased expression of a gene caused by a T-DNA insertion in an adjacent gene in Arabidopsis
PLoS One, 査読有り, Vol. 11, 2016, e0147911
DOI: 10.1371/journal.pone.0147911
Kosei Iwabuchi, Jun Hidema, Kentaro Tamura, Shingo Takagi, Ikuko Hara-Nishimura
Plant nuclei move to escape ultraviolet-induced DNA damage and cell death
Plant Physiology, 査読有り, Vol. 170, 2016, 678-685
DOI: 10.1104/pp.15.01400
Haruko Ueda, Etsuo Yokota, Keiko Kuwata, Natsumaro Kutsuna, Shoji Mano, Tomoo Shimada, Kentaro Tamura, Giovanni Stefano, Yoichiro Fukao, Federica Brandizzi, Teruo Shimmen, Mikio Nishimura, Ikuko Hara-Nishimura
Phosphorylation of the C Terminus of RHD3 Has a Critical Role in Homotypic ER Membrane Fusion in Arabidopsis
Plant Physiology, 査読有り, Vol. 170, 2016, 867-880
DOI: 10.1104/pp.15.01172
Haruko Ueda, Kentaro Tamura, Ikuko Hara-Nishimura
Functions of plant-specific myosin XI: from intracellular motility to plant postures
Current Opinion in Plant Biology, 査読有り, Vol. 28, 2015, 30-38
DOI: 10.1016/j.pbi.2015.08.006.
Kentaro Tamura, Chieko Goto, Ikuko Hara-Nishimura
Recent advances in understanding plant nuclear envelope proteins involved in nuclear morphology
Journal of Experimental Botany, 査読有り, Vol. 66, 2015, 1641-1647
DOI: 10.1093/jxb/erv036
Keishi Okamoto, Haruko Ueda, Tomoo Shimada, Kentaro Tamura, Takehide Kato, Masao Tasaka, Miyo Terao Morita & Ikuko Hara-Nishimura
Regulation of organ straightening and plant posture by an actin-myosin XI cytoskeleton
Nature Plants, 査読有り, Vol 4, 2015, 15031
DOI: 10.1038/nplants.2015.31

Teh Ooi-Kock, Noriyuki Hatsugai, Kentaro Tamura, Kentaro Fuji, Ryosuke Tabata, Katsushi Yamaguchi, Shuji Shingenobu, Masashi Yamada, Mitsuyasu Hasebe, Shinichiro Sawa, Tomoo Shimada, Ikuko Hara-Nishimura
BEACH-Domain Proteins Act Together in a Cascade to Mediate Vacuolar Protein Trafficking and Disease Resistance in Arabidopsis
Molecular Plant, 査読有り, Vol. 8, 2015, 389-398
DOI: 10.1016/j.molp.2014.11.015

Takuji Ichino, Kentaro Fuji, Haruko Ueda, Hideyuki Takahashi, Yasuko Koumoto, Junpei Takagi, Kentaro Tamura, Ryosuke Sasaki, Koh Aoki, Tomoo Shimada, Ikuko Hara-Nishimura
GFS9/TT9 contributes to intracellular membrane trafficking and flavonoid accumulation in Arabidopsis thaliana
Plant Journal, 査読有り, Vol. 80, 2014, 410-423
DOI: 10.1111/tpj.12637

Mina Ohtsu, Yusuke Shibata, Makoto Ojika, Kentaro Tamura, Ikuko Hara-Nishimura, Hitoshi Mori, Kazuhito Kawakita, and Daigo Takemoto
Nucleoporin 75 Is Involved in the Ethylene-Mediated Production of Phytoalexin for the Resistance of Nicotiana benthamiana to Phytophthora infestans
Molecular Plant-Microbe Interactions Journal, 査読有り, Vol. 27, 2014, 1318-1330
DOI: <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-06-14-0181-R>

⑪ Kentaro Tamura, Ikuko Hara-Nishimura
Functional insights of nucleocytoplasmic transport in plants
Frontiers in Plant Science, 査読有り, Vol. 5, 2014, 118
DOI: 10.3389/fpls.2014.00118

⑫ Chieko Goto, Kentaro Tamura, Yoichiro Fukao, Tomoo Shimada, Ikuko Hara-Nishimura
The novel nuclear envelope protein KAKU4 modulates nuclear morphology in Arabidopsis
Plant Cell, 査読有り, Vol. 25, 2014, 4658-4675
DOI: 10.1105/tpc.113.122168

[学会発表](計 10 件)

Kentaro Tamura
Nucleocytoplasmic transport functions in environmental responses of higher plants, Annual Meeting of Molecular Biology Society of Japan, 2018

Kentaro Tamura
Dynamic regulation of plant nuclear architecture, Annual Meeting of the Botanical Society of Japan, 2018

Kentaro Tamura
Diverse functions of plant nuclear envelope proteins, Society for Experimental Biology Annual Main Meeting, 2018

Kentaro Tamura
Emerging roles for nuclear membrane in signalling pathway in higher plants, Society for Experimental Biology Annual Main Meeting, 2016

Kentaro Tamura and Ikuko Hara-Nishimura
Nuclear movement and shape are controlled by nuclear myosin XI-i, JSPP, 2016
Kentaro Tamura

The unique nucleocytoplasmic linkage in plants, BMB2015, 2015
Kentaro Tamura

Molecular relationships between the plant-specific nuclear envelope proteins, IPNV2015, 2015
Kentaro Tamura

Myosin Xi-i is required for nuclear movement and shape in Arabidopsis, ECAB2014, 2014
Kentaro Tamura

Key regulators of nuclear dynamics in Arabidopsis, SEB2014, 2014
Kentaro Tamura, Yocihro Fukao, Ikuko Hara-Nishimura

Interactive proteomics dissects structural dynamics of plant nuclear envelope, 1st NIPPO World Congress, 2014

[図書](計 0 件)

[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：
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：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://dfns.u-shizuoka-ken.ac.jp/labs/ecophys/>

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。