

令和 5 年 5 月 31 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K05950

研究課題名(和文)重力応答時の力学的最適化に働く細胞壁ホメオスタシス機構の解明

研究課題名(英文) Cell wall homeostasis mechanisms involved in mechanical optimisation during gravity response.

研究代表者

岩井 宏暁 (Iwai, Hiroaki)

筑波大学・生命環境系・准教授

研究者番号：30375430

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：植物が自らの姿勢を正常に維持するための情報源として利用して来たのが重力である。ペクチン、ヘミセルロース、細胞壁構造タンパク質を改変した40種以上イネより、重力屈性が変化したイネの同定を試みた。その結果、倒伏させた状態から回復する角度を調査した結果、キシロシダーゼ過剰発現イネで約46%高く、-キシラナーゼ過剰発現イネでは約10%低いことが明らかとなった。また、花粉管の通り道である花柱の力学的性質を決定するペクチンが、物理的障害として受精の調節を担っているかどうかについても調査した。ペクチンメチル基転移酵素の変異体では、雌しべの花柱の力学的性質に異常が生じ、花粉管が不通過となった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

新たな重力応答性細胞壁マーカーの同定は本研究の独創的な点であり、他の環境応答バイオマーカーとの技術融合による建材植物生産効率の大幅向上が期待できる。また、タケやヤシ科植物など、他の建築用資材植物の有料資材獲得の大幅効率化にも寄与できると予想される。これらの成果を元に、重力応答数理予測モデルを構築することは、異分野融合に大きな貢献をするものと期待している。また、重力応答数理予測モデルは、適切な材料を選択することも含め建築設計にも利用できるものを構築したいと考えている。

研究成果の概要(英文)：Gravity has been used by plants as a source of information to maintain their own normal position. From more than 40 rice species with altered pectin, hemicellulose and cell wall structural proteins, we sought to identify rice plants with altered gravitropism. The results showed that the angle of recovery from the collapsed state was about 46% higher in xylosidase-overexpressing rice plants and about 10% lower in -xylanase-overexpressing rice plants. The study also investigated whether pectin, which determines the mechanical properties of the pollen tube pathway or the pollen column, is responsible for regulating fertilization as a physical barrier. Mutants of pectin methyltransferase caused abnormalities in the mechanical properties of the pollen column of the pistil, resulting in the failure of the pollen tube to penetrate.

研究分野：植物生理学

キーワード：細胞壁 重力 力学的特性

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

本研究課題の核心は、植物が重力応答時に、どのような細胞壁成分が少なくなり、また多くなることで力学的最適化を行うか、という謎である。まさに「細胞壁ホメオスタシス」機構が存在するかという謎に対し、現在までに確立した細胞壁改変イネを用いた倒伏回復時の細胞壁の力学的性質を回復する過程およびマンガローブなどの屈曲状態で最適化した特殊な力学的性質を持つ熱帯植物を調べることで解決に挑む。植物が陸上に進出する時、重力に対抗して自らの体を支えられるため、植物は細胞壁を発達させることで解決して来た。このプロセスの中で、植物が自らの姿勢を正常に維持するための情報源として利用して来たのが「重力」である。申請者は現在までの成果として、ペクチン、ヘミセルロース、細胞壁構造タンパク質を改変したイネのライブラリーを作成しており、そこから重力屈性が変化したイネを既に3種類同定している。特にキシランが減少し、セルロースが増加したラインでは重力屈性が向上しており、これは重力応答機能における「細胞壁ホメオスタシス」の存在を示唆するものである。また、マンガローブなど屈曲状態で力学的に最適化した植物が熱帯植物には多数存在する。細胞壁改変イネライブラリーと屈曲に着目した熱帯植物を用いることで、重力応答性細胞壁マーカーの同定を行う。この成果を元に細胞壁と重力応答性との関連性についての重力応答予測モデルの構築を行う。

2. 研究の目的

植物が陸上に進出する時、重力に対抗して自らの体を支えるため、植物は細胞壁を発達させて来た。このプロセスの中で、植物が自らの姿勢を正常に維持するための情報源として利用して来たのが「重力」である。この重力に応答するために重要な細胞壁因子を細胞壁マーカーとして同定することが、本研究課題の第一の目的である。申請者は、40種類以上の細胞壁改変イネライブラリーを作成し、その中から、主に発生に重要な細胞壁マーカーを同定してきた。その中には、葉の角度が異常に広がるような、重力応答に影響のある発生を示した細胞壁タンパク質 THRGP (Molecular Plant 投稿中) や、葉の強度影響がでたキシラン分解酵素過剰発現イネ (PloS One 2013) などがあった。これらの成果を元に、重力という環境応答に影響が出るか調査したところ、現在までに3種類の細胞壁改変イネで、重力応答性が向上したり、減少したりするものが得られている。これまでの成果を発展させ、さらにスクリーニングを進めていくことで、有力な細胞壁マーカーが同定できることを確信している。また、いわゆる「まっすぐ」ではなく、曲がった状態で力学的に安定した植物は、マンガローブをはじめとして熱帯植物に多く観察できる。こういった屈曲状態で力学的最適化した熱帯植物に注目し、こういった細胞壁マーカーが、力学的安定化に寄与したかを明らかとする重力屈性における細胞壁特性について、特に単子葉植物および熱帯植物に踏み込んだ研究はほとんど報告がない。新たな重力応答性細胞壁マーカーの同定と、これを元にした重力応答数理予測モデルは本研究の独創的な点であり、他の環境応答バイオマーカーとの技術融合による建材植物生産効率の大幅向上が期待できる。また、タケやヤシ科植物など、他の建築用資材植物の有料資材獲得の大幅効率化にも寄与できると予想される。

3. 研究の方法

申請者は現在までに、ペクチン、ヘミセルロース、細胞壁構造タンパク質を改変したイネのライブラリーを有しており、そこから重力屈性が変化したイネを既に3種類同定している。特にキシランが減少し、セルロースが増加したラインでは重力屈性が向上しており、これは重力応答機能における「細胞壁ホメオスタシス」の存在を示唆するものである。また、マンガローブなど屈曲状態で力学的に最適化した植物が熱帯植物には多数存在する。研究協力者の琉球大学の小西照子教授との共同研究により、屈曲に最適化した熱帯植物を用いることが可能となった。細胞壁改変イネライブラリーとの組み合わせを用いることで、重力応答性細胞壁マーカーの同定を行う。

(1) 新規の重力応答性細胞壁マーカーの探索

1) 細胞壁改変イネライブラリーからの探索: 申請者が保有するペクチン: ペクチン量およびペクチンメチル化酵素 K0 株、ヘミセルロース: キシラン、キシログルカン、1,3-1,4 グルカン量が減少および K0 株、細胞壁構造タンパク質: エクステンシン、グリシンリッチプロテイン (GRP)、スレオニンハイドロキシリッチプロテイン (THRGP) の KD および K0 株、セルロース: セルロース量 K0 株について、倒伏からの回復実験を行い、屈曲性に異常が生じた細胞壁改変株をスクリーニングする。

2) 熱帯植物ライブラリーからの探索: マングローブ、タコノキのような屈曲状態で力学的に安定化した熱帯植物について、屈曲状態でないものとの比較から重要な細胞壁因子である細胞壁マーカーを同定する。スクリーニングができたものから、(2) の解析を進行する。

(2) 倒伏回復に異常が生じた細胞壁改変イネの解析

現在までに、倒伏させた状態から回復する角度を調査した結果、 α -キシロシダーゼ過剰発現イ

ネで約 46%、ガラクタナーゼ過剰発現イネで約 11%高く、 α -キシラナーゼ過剰発現イネでは約 10%低いことを見出している。これらの屈曲部において以下の調査を行う。

1) 屈曲部における上部および下部の力学的特性の調査

屈曲部における上部および下部の力学的特性の数値化を行う。また、屈曲上部および下部の維管束組織、柔組織、表皮組織の力学的特性の測定を行う。このことにより、屈曲に変化が生じた原因となった力学的特性を持つ組織の特定を行う。

2) 細胞壁多糖類の生化学的解析

屈曲部の力学的特性に変化が生じていた組織ごとにサンプリングを行い、細胞壁多糖類の構成糖分析および糖結合様式解析を行うことで、力学的特性に影響を与えている細胞壁多糖類の量と質について調査を行う。

3) 免疫組織化学染色による細胞壁多糖類の分布

1)および2)で変化が生じていた組織および細胞壁多糖類について、それに特異的に認識するモノクローナル抗体を用いて、屈曲1日目から14日目までのステージごとに、当該組織における分布を調査する。

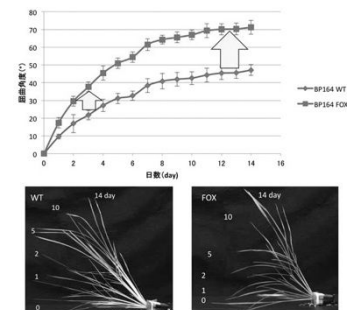
4. 研究成果

植物が陸上に進出する時、重力に対抗して自らの体を支えるため、植物は細胞壁を発達させて来た。このプロセスの中で、植物が自らの姿勢を正常に維持するための情報源として利用して来たのが「重力」である。この重力に**応答するために重要な細胞壁因子を細胞壁マーカーとして同定することが、本研究課題の第一の目的である。**

申請者は、新学術領域「植物細胞壁機能」の計画班員として、40種以上の細胞壁改変イネライブラリーを作成し、その中から、主に発生に重要な細胞壁マーカーを同定してきた。その中には、葉の角度が異常に広がるような、重力応答に影響のある発生を示した細胞壁タンパク質 THRGP (投稿準備中)や、葉の強度影響がでたキシラン分解酵素過剰発現イネ (PloS One 2013) などがあった。これらの成果を元に、重力という環境応答に影響が出るか調査したところ、現在までに3種類の細胞壁改変イネで、重力応答性が向上したり、減少したりするものが得られている。特にキシランが減少し、セルロースが増加したラインでは重力屈性が向上しており、これは重力応答機能における「細胞壁ホメオスタシス」の存在を示唆するものであった。

40種以上の細胞壁改変イネライブラリーから探索した結果、倒伏させた状態から回復する角度を調査した結果、 α -キシロシダーゼ過剰発現イネで約46%、ガラクタナーゼ過剰発現イネで約11%高く、 α -キシラナーゼ過剰発現イネでは約10%低いことが明らかとなった。また、アラビノフラノシダーゼ過剰発現イネでは、遅延は起こるが最終的に野生型と同じ角度に回復することが示された。特にキシランが減少し、セルロースが増加したラインでは重力屈性が向上していた。重力屈性に重要な機能を持つことが示唆されたスレオニンヒドロキシリッチプロテイン (THRGP) のノックダウン株において、重力屈性に必須なオーキシンに対する応答機能を探索するため、種々の阻害剤を投与した時の、THRGPの屈曲部での動態について調査を行なった。その結果、オーキシン輸送阻害剤 NPA 処理区で、重力応答に関する回旋転頭運動の異常が見られた。また、花粉管の通り道である花柱の力学的性質を決定するペクチンが、物理的障害として受精の調節を担っているかどうかについても調査した。ペクチンメチル基転移酵素 (PMT) は、ゴルジ体で機能し、ペクチン合成時のメチル化制御を行っている。この PME の変異体では、雌しべの花柱に異常が生じて、花柱においてペクチンがゲル化してしまい、花粉管が通過できずリターンしてしまうことを見出した。ペクチンは Ca と結合する前は液状であるが、Ca-ペクチンとなるとゲルとなる。ペクチンと Ca の結合に、ペクチンのメチル化調節が必須である。花柱は一本道のトンネルのような役割を果たしていると考えられてきた。しかし花粉管は花柱が、ペクチンと Ca が結合していない柔らかい液体状の細胞壁でなければ機能せず、Ca-ペクチンゲルがある状態では花粉管不通過が生じていた (Hasegawa et al. 2021)。これまでで得られた成果をもとに、細胞壁と重力応答性との関連性についての重力応答予測モデルの構築を行うことが今後の課題である。

Xylosidase FOXの倒伏からの回復



Xylosidase-FOXは倒伏からの回復が早く、立ち上がりも高い

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Iwai Hiroaki	4. 巻 134
2. 論文標題 Virtual issue: cell wall functions in plant growth and environmental responses	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Plant Research	6. 最初と最後の頁 1155 ~ 1158
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10265-021-01351-y	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 -
1. 著者名 Ohara Takashi, Takeuchi Haruki, Sato Junya, Nakamura Atsuko, Ichikawa Hiroaki, Yokoyama Ryusuke, Nishitani Kazuhiko, Minami Eiichi, Satoh Shinobu, Iwai Hiroaki	4. 巻 62
2. 論文標題 Structural Alteration of Rice Pectin Affects Cell Wall Mechanical Strength and Pathogenicity of the Rice Blast Fungus Under Weak Light Conditions	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Plant and Cell Physiology	6. 最初と最後の頁 641 ~ 649
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/pcp/pcab019	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 -
1. 著者名 Hasegawa Kazuya, Kamada Shihomi, Takehara Shohei, Takeuchi Haruki, Nakamura Atsuko, Satoh Shinobu, Iwai Hiroaki	4. 巻 62
2. 論文標題 Rice Putative Pectin Methyltransferase Gene OsPMT10 Is Required for Maintaining the Cell Wall Properties of Pistil Transmitting Tissues via Pectin Modification	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Plant and Cell Physiology	6. 最初と最後の頁 1902 ~ 1911
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/pcp/pcab078	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 -
1. 著者名 Ohara T, Takeuchi H, Sato J, Nakamura A, Ichikawa H, Yokoyama R, Nishitani K, Minami E, Satoh S, Iwai H.	4. 巻 -
2. 論文標題 Structural Alternation of Rice Pectin Affects Cell Wall Mechanical Strength and Pathogenicity for the Rice Blast Fungus under Weak Light Conditions	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Plant & Cell Physiology	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) 10.1093/pcp/pcab019.	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 -

1. 著者名 Takebe N, Nakamura A, Watanabe T, Miyashita A, Satoh S, Iwai H.	4. 巻 133
2. 論文標題 Cell wall Glycine-rich Protein2 is involved in tapetal differentiation and pollen maturation.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Plant Res.	6. 最初と最後の頁 883-895
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10265-020-01223-x.	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 -

1. 著者名 Hasegawa K, Kamada S, Takehara S, Takeuchi H, Nakamura A, Satoh S, Iwai H.	4. 巻 11
2. 論文標題 Rice Putative Methyltransferase Gene OsPMT16 Is Required for Pistil Development Involving Pectin Modification.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Front Plant Sci.	6. 最初と最後の頁 475
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fpls.2020.00475.	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 -

[学会発表] 計6件(うち招待講演 2件/うち国際学会 1件)

1. 発表者名 矢野朱華; 板野愛都; 宮越茜里; 佐藤忍; 岩井 宏暁
2. 発表標題 塩ストレス条件下の早期果実形成過程における細胞壁の変化
3. 学会等名 日本植物学会第85回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 木田朋宏; 大場裕介; 渡辺朝美; 宮下彩; 中村敦子; 佐藤忍; 岩井 宏暁
2. 発表標題 根の伸長におけるイネ細胞壁タンパク質 THRGP の機能解析
3. 学会等名 日本植物学会第85回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小坂友紀; 高橋玲奈; 杉山晴香; 沼尻侑子; 宇賀優作; 佐藤忍; 岩井 宏暁
2. 発表標題 塩ストレス条件下でのトマト成熟果実における維管束構築の変化
3. 学会等名 日本植物学会第85回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岩井 宏暁
2. 発表標題 環境ストレス応答における植物細胞壁ペクチンの機能
3. 学会等名 第133回 日本森林学会大会 生理部門企画シンポジウム「動的な細胞壁」(招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 長山 照樹, 齋藤 大夢, 中村 敦子, 山地 直樹, 佐藤 忍, 古川 純, 岩井 宏暁
2. 発表標題 イネにおける細胞壁多糖類のアルミニウム適応応答
3. 学会等名 第62回日本植物生理学会年会(国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岩井宏暁
2. 発表標題 植物細胞壁と金属との付き合い ~力学的特性の変化~
3. 学会等名 バイオeカフェ(招待講演)
4. 発表年 2020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
---------	---------