

様 式 C-7-1

平成30年度科学研究費助成事業（科学研究費補助金）実績報告書（研究実績報告書）

所属研究機関名称		機関番号	14603
研究 代表者	部局	先端科学技術研究科	
	職	教授	
	氏名	出村 拓	

1. 研究種目名

基盤研究(B)(一般)

2. 課題番号

18H02466

3. 研究課題名

木部細胞分化を制御するVNSレギュロンの構造と動態可塑性の多層的解析

4. 研究期間

平成30年度～令和2年度

5. 領域番号・区分

—

6. 研究実績の概要

<マルチオミクス解析による新規因子の同定>タバコおよびシロイヌナズナ培養細胞の道管細胞分化誘導系を用いたマルチオミクス解析として、メタボローム解析を進めた。その結果、VNSレギュロンにポジティブ/ネガティブフィードバックとして影響しうる代謝産物を見だし、これら代謝産物の生合成の阻害剤5種が道管細胞分化頻度に及ぼす影響を解析した。さらに、これら阻害剤によるトランスクリプトームへの影響を調べるための経時的RNA-seq解析の準備を進めた。

<化学生物学的解析による新規因子の同定>これまでに見いだした「道管細胞に特徴的な螺旋紋の二次細胞壁パターンを強く攪乱する化合物や道管細胞への分化率を特異的に上昇・下降させる化合物」がVNSレギュロンの動態にどのように影響しているかを解析した。さらに、既知の細胞内環境（酸化ストレス、膜交通の攪乱、エピゲノム状態、など）の変化がVNSレギュロンに及ぼす影響を、これら細胞内環境の各種阻害剤の投与によって調べた。

<順遺伝学的手法による新規因子の同定>これまでに、シロイヌナズナVND7-VPI6-GR株の種子をEMSで処理した突然変異体プールから、道管細胞分化の抑制変異体（9系統）の取得に成功し、その原因遺伝子の多くが、ユビキチン化といったタンパク質修飾に関わる可能性を示してきた。本研究ではこの可能性をさらに探るために、道管分化過程のユビキチン化タンパク質の動態解析として、道管分化過程のユビキチン化タンパク質のプロテオームに着手した。

<VNSレギュロンの進化的変遷の解析>本研究では、裸子植物におけるVNS転写因子機能の進化的変遷を明らかにするために、蛍光相関分光法を用いたVNSレギュロンの基本構造の推定解析を行った。

7. キーワード

メタボローム解析 化学生物学的解析 順遺伝学 ユビキチン化 進化的変遷

8. 現在までの進捗状況

区分	(2) おおむね順調に進展している。
理由	<マルチオミクス解析による新規因子の同定>メタボローム解析については、予想した代謝物の生合成の阻害剤によるトランスクリプトームへの影響を調べるための経時的RNA-seq解析には至らなかったものの、翌年のフラックス解析の準備を含め全体として順調に進んだ。 <化学生物学的解析による新規因子の同定>様々な細胞内環境に影響を与える薬剤の解析を行うことができた。 <順遺伝学的手法による新規因子の同定>ユビキチン化タンパク質のプロテオーム解析に着手できた。 <VNSレギュロンの進化的変遷の解析>裸子植物におけるVNS転写因子機能の進化的変遷を明らかにするための手段として、蛍光相関分光法を用いた解析が可能となった。

1 版

9. 今後の研究の推進方策

1. 新規VNSレギュロン因子の同定（マルチオミクス/化学生物学的/順遺伝学的解析）
 昨年度のマルチオミクス解析から、ユビキチン化タンパク質修飾がVNSレギュロンの制御に関わる可能性が強く示唆されるに至った。そこで今年度は、ユビキチン化タンパク質をターゲットとしたプロテオーム解析をさらに推進することで、VNSレギュロンの制御因子を探索し、その機能についての実験的検証を進める。ベンサミタパコー過剰誘導系での道管分化の過程における他の構成因子とのBiFC解析や細胞内局在解析にも取り組む。道管細胞分化抑制変異体については、原因遺伝子の同定を継続するとともに、原因遺伝子の機能解析を順次進め、VNSレギュロンにおける役割を解明する。

2. VNSレギュロンの進化的変遷の解析
 進化におけるVNSレギュロンの変遷を転写因子の転写活性化能力と下流シス配列との結合親和性の変遷として読み解く。具体的には、既に確立している一分子蛍光解析装置を用いた蛍光相関分光法（FCS法）による結合解析系を利用し、結合親和性定量データを取得することで、具体的なVNSシス配列の協調進化の可能性を探索する。

3. VNSレギュロンによる通水・支持機能最適化の数理モデル化
 上記のデータをもとに、「VNS レギュロン」構造の変遷あるいは可塑的運用に関する数理モデルの構築を行い、ベンサミタパコー過剰誘導系を用いた再構築実験によってモデルの妥当性を検証する。数理モデルの構築にあたっては、当研究室所属の津川曉特任助教の協力を仰ぐ。

10. 研究発表（平成30年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件／うち国際共著論文 1件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Takenaka Yuto, Watanabe Yoichiro, Schuetz Mathias, Unda Faride, Hill Joseph Lee, Phookaew Pawittra, Yoneda Arata, Mansfield Shawn D., Samuels A. Lacey, Ohtani Misato, Demura Taku	4. 巻 30
2. 論文標題 Patterned deposition of xylan and lignin is independent from the secondary wall cellulose of Arabidopsis xylem vessels	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Plant Cell	6. 最初と最後の頁 2663-2676
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1105/tpc.18.00292	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 該当する

1. 著者名 Saelim Laddawan, Akiyoshi Nobuhiro, Tan Tian Tian, Ihara Ayumi, Yamaguchi Masatoshi, Hirano Ko, Matsuoka Makoto, Demura Taku, Ohtani Misato	4. 巻 132
2. 論文標題 Arabidopsis Group IIIId ERF proteins positively regulate primary cell wall-type CESA genes	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Plant Research	6. 最初と最後の頁 117-129
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10265-018-1074-1	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 Ohtani Misato, Demura Taku	4. 巻 56
2. 論文標題 The quest for transcriptional hubs of lignin biosynthesis: beyond the NAC-MYB-gene regulatory network model	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Current Opinion in Biotechnology	6. 最初と最後の頁 82~87
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.copbio.2018.10.002	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 Tan Tian Tian、Demura Taku、Ohtani Misato	4. 巻 36
2. 論文標題 Creating vessel elements in vitro: Towards a comprehensive understanding of the molecular basis of xylem vessel element differentiation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Plant Biotechnology	6. 最初と最後の頁 1～6
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.5511/plantbiotechnology.18.1119b	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0件

〔図書〕 計0件

1 1. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

計0件（うち出願0件／うち取得0件）

1 2. 科研費を使用して開催した国際研究集会

計0件

1 3. 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			
カナダ	ブリティッシュコロンビア大学	—	—	—
ドイツ	MPI	—	—	—
—	—	—	—	—
—	—	—	—	—
—	—	—	—	—
—	—	—	—	—

1 4. 備考

—