

様 式 C-7-1

平成 26 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）

1. 機 関 番 号

1

4

6

0

3

2. 研究機関名

奈良先端科学技術大学院大学

3. 研究種目名

新学術領域研究（研究領域提案型）

4. 研究 期 間

平成 24 年度～平成 28 年度

5. 課 題 番 号

2

4

1

1

4

0

0

2

6. 研究課題名

オミクス解析による細胞外情報処理空間構築の統合的理解

7. 研究代表者

研究 者 番 号	研究 代 表 者 名	所 属 部 局 名	職 名
4 0 2 7 2 0 0 9	デムラ タク 出村 拓	バイオサイエンス研究科	教授

8. 研究分担者

研究 者 番 号	研究 分 担 者 名	所属研究機関名・部局名	職 名
5 0 3 6 0 5 4 0	クラタ テツヤ 倉田 哲也	バイオサイエンス研究科	准教授

9. 研究実績の概要

1. 二次細胞壁形成のオミクス解析：VND7のリン酸化が転写活性化の亢進に寄与することを強く支持する結果を得た。また、オミクス解析として、VND7の誘導型活性化によって高頻度で二次細胞壁形成を誘導できる形質転換タバコBY-2培養細胞を用いて、プロテオーム解析とメタボローム解析を行った。プロテオーム解析では、二次細胞壁形成誘導後のタンパク質の変化をiTRAQによって定量的に解析した。一方、メタボローム解析については、重複も含めて700種程度の代謝産物が検出可能なワイドターゲット解析を行った。その結果、定量的データが得られた合計517の代謝産物のうち21の代謝産物の蓄積量が二次細胞壁形成誘導処理によって変動することを明らかにした。また、バイオインフォマティクスによるVND7下流の転写ネットワークの推定が可能であるかどうかの検証を行い、Gaussian Graphical Models (GGM)とDynamic Bayesian Networks (DBN)が有効であることを示した。

2. 一次細胞壁形成のオミクス解析：これまでにプロトプラストからの細胞壁再生過程のトランスクリプトーム解析の結果から、細胞壁分解酵素群の発現が強く抑制されることを見出した。一方、KOR2遺伝子の発現が誘導されること、KOR2変異体では細胞壁再生が抑制される傾向があることを見出した。

3. 細胞壁形成転写ネットワークの進化：コケ植物のヒメツリガネゴケとオオミズゴケを対象に研究を進めた。今年度は、ヒメツリガネゴケにおいて、VND7と同じ遺伝子ファミリー（VNSファミリー）に属するPpVNS7によって発現が制御されているポリガラクトツロナーゼ遺伝子群が、通水細胞であるハイドロイドにおける細胞壁の分解に関わる可能性を見出した。

10. キーワード

(1) 植物発生・分化	(2) 細胞壁	(3) トランスクリプトーム	(4) プロテオーム
(5) 進化	(6)	(7)	(8)

11. 現在までの達成度

(区分) (2) おおむね順調に進展している。

(理由)

二次細胞壁形成のオミクス解析については、プロテオーム解析が進展し、メタボローム解析でも新しい発見があった。一次細胞壁形成に関しては、新たにKOR2の関与を示すことができた。細胞壁形成転写ネットワークの進化については、ポリガラクトツロナーゼの機能を新たに示すことができた。以上のことから、おおむね順調に進展していると判断している。

12. 今後の研究の推進方策

(今後の推進方策)

1. 二次細胞壁形成のオミクス解析：道管分化のマスター転写因子であるVND7の下流で展開する二次細胞壁形成について、転写ネットワークの調和システムをオミクス解析により明らかにする。今年度は、sub-cellularレベルの解析としてゴルジ体タンパク質のプロテオーム解析を行う。また、二次細胞壁形成過程におけるメタボローム解析から明らかになったアミノ酸代謝関連の変化をもとに、それら代謝産物の二次細胞壁形成における役割を解析する。さらに、細胞壁成分の解析技術として確立した熱分解GC-MS、NMR、TG/DTA解析、糖鎖分析を用いて、培養細胞を用いた二次細胞壁形成過程での細胞壁成分の変化を追跡する。

2. 一次細胞壁形成のオミクス解析：一次細胞壁形成のメカニズムを明らかにするために、これまでに確立したプロトプラストからの細胞壁再生の実験系でのトランスクリプトーム解析の結果をもとにした逆遺伝学解析を継続する。また、一次細胞壁再生時のオミクス解析を行う。さらに、一次細胞壁再生時に細胞壁の厚さを制御するメカニズムに関する研究に取り組む。

3. 細胞壁形成転写ネットワークの進化：昨年度は、これまでに進めてきたオオミズゴケや裸子植物のテーダマツを対象にした研究に加えて、ゼニゴケを解析対象とし、VNS遺伝子群がゼニゴケの細胞壁形成に関わる可能性を見出した。今年度は、ゼニゴケVNS遺伝子の機能解析を継続する。さらに、カナダトウヒなどの新たな材料を用いて針葉樹仮道管の二次細胞壁形成におけるVNS遺伝子群の機能解析に着手する。

13.研究発表(平成26年度の研究成果)

(雑誌論文) 計(3)件 うち査読付論文 計(3)件

著 者 名		論 文 標 題			
Numata, K., Yoshizumi, T., Ohtani, M., Demura, T., Kodama, Y.		Local gene silencing in plants via synthetic dsRNA and carrier peptide.			
雑 誌 名		査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Plant Biotechnology Journal		有	12	2 0 1 4	1027-1034
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)					
doi: 10.1111/pbi.12208					

著 者 名		論 文 標 題			
Endo H, Yamaguchi M, Tamura T, Nakano Y, Nishikubo N, Yoneda A, Kato K, Kubo M, Kajita S, Katayama Y, Ohtani M, Demura T		Multiple classes of transcription factors regulate the expression of VASCULAR-RELATED NAC-DOMAIN7, a master switch of xylem vessel differentiation			
雑 誌 名		査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Plant and Cell Physiology		有	56	2 0 1 5	242-254
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)					
doi: 10.1093/pcp/pcu134					

著 者 名		論 文 標 題			
Mathias Schuetz, Anika Benske, Rebecca Smith, Yoichiro Watanabe, Yuki Tobimatsu, John Ralph, Taku Demura, Brian Ellis, Lacey Samuels		Laccases direct lignification in the discrete secondary cell wall domains of protoxylem.			
雑 誌 名		査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Plant Physiology		有	166	2 0 1 4	798-807
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)					
DOI:10.1104/pp.114.245597					

[学会発表] 計(9)件 うち招待講演 計(3)件

発表者名	発表標題	
Arata Yoneda, 他	Molecular mechanisms of primary cell wall regeneration from protoplast	
学会等名	発表年月日	発表場所
5th International Conference of Plant Cell Wall Biology	2014年07月27日～2014年07月31日	Palm Cove (オーストラリア)

発表者名	発表標題	
Taku Demura, 他	NAC transcription factors regulating cell wall formation and programmed cell death in moss <i>Physcomitrella patens</i>	
学会等名	発表年月日	発表場所
5th International Conference of Plant Cell Wall Biology (招待講演)	2014年07月27日～2014年07月30日	Palm Cove (オーストラリア)

発表者名	発表標題	
寺田志織, 他	オオミズゴケの透明細胞分化に関わる分子メカニズムの解明	
学会等名	発表年月日	発表場所
第78回日本植物学会	2014年09月12日～2014年09月14日	明治大学 (神奈川県川崎市)

発表者名	発表標題	
森崎敬子, 他	道管要素分化誘導可能なタバコBY2細胞株を用いたメタボローム解析	
学会等名	発表年月日	発表場所
第486回日本農芸化学会関西支部大会	2014年09月20日	奈良先端科学技術大学院大学 (奈良県生駒市)

発 表 者 名	発 表 標 題	
米田新、出村拓	プロトプラストからの一次細胞壁再形成時に働く分子機構の解析	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第78回日本植物学会シンポジウム	2014年09月12日～2014年09月14日	明治大学 (神奈川県川崎市)

発 表 者 名	発 表 標 題	
家門絵理、他	ケミカルジェネティクスを用いた木部道管形成の解明用いた木部道管分化における二次細胞壁パターン形成機構の解明	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第78回日本植物学会シンポジウム	2014年09月12日～2014年09月14日	明治大学 (神奈川県川崎市)

発 表 者 名	発 表 標 題	
Misato Ohtani, 他	Evolution of water-conducting cells in land plants; lessons from VNS family genes	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第56回日本植物生理学会年会 (招待講演)	2015年03月16日～2015年03月18日	東京農業大学 (東京都世田谷区)

発 表 者 名	発 表 標 題	
Arata Yoneda, 他	Chemical genetic approach for plant cell wall patterning	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第55回日本植物生理学会年会 (招待講演)	2015年03月16日～2015年03月18日	東京農業大学 (東京都世田谷区)

発 表 者 名	発 表 標 題	
堀千明、他	Overexpression of fungal xylanases altered cell wall structure in poplar	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第56回日本植物生理学会年会	2015年03月16日～2015年03月18日	東京農業大学(東京都世田谷区)

〔図書〕 計 (0) 件

著 者 名	出 版 社		
書 名	発行年	総ページ数	

14.研究成果による産業財産権の出願・取得状況

〔出願〕 計 (0) 件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	出願年月日	国内・外国の別

〔取得〕 計 (0) 件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	取得年月日	国内・外国の別
				出願年月日	

15.備考

--