

様式 C - 7 - 1

令和元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）

| | |
|----------|--|
| 機関番号 | 14603 |
| 所属研究機関名称 | 奈良先端科学技術大学院大学 |
| 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>シロイヌナズナ培養細胞の道管細胞分化誘導系のメタボロームの詳細を明らかにするためにフラックス解析を行った。さらに、得られた結果と前年までに終了しているメタボローム解析の結果を統合することで、VNSレギュロンに影響しうる代謝産物を絞り込んだ。また、道管分化誘導系におけるユビキチン化タンパク質プロテオーム解析の結果をもとにVND7タンパク質のユビキチン化アミノ酸を特定した。

<化学生物学的解析による新規因子の同定>「道管細胞への分化率を特異的に上昇させる化合物」の解析から、細胞周期の遅延が分化率の上昇に繋がる可能性を見いだし、詳細な解析を続けるとともに、関連する他の化合物の分化率への影響調査を行った。さらに、既知の細胞内環境（酸化ストレス、膜交通の搅乱、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の解析から、HDAC阻害剤が道管分化を抑制することが分かった。さらにHDAC阻害剤によって道管分化の抑制機能を持つ複数の転写因子の発現レベルが上がることも明らかとなつた。

<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予想するために、各種植物のVNS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を、一分子蛍光解析装置を用いた蛍光相関分光法（FCS法）によって解析した。その結果、VNS - シス配列の結合親和性がコケ植物から維管束植物への進化の過程で大きく変化した可能性を見いだした。

7. キーワード

マルチオミクス ユビキチン化 化学生物学的解析 HDAC阻害剤 進化的変遷 蛍光相関分光法

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>予定通り、フラックス解析が順調に進んだ。VND7タンパク質のユビキチン化アミノ酸を特定することができた。

<化学生物学的解析による新規因子の同定>HDAC阻害剤が道管分化を抑制することを明らかにし、そのターゲット候補を絞り込むことができた。

<VNSレギュロンの進化的変遷の解析>VNS - シス配列の結合親和性がコケ植物から維管束植物への進化の過程で大きく変化した可能性を示すことができた。

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） 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継続することで、VNSレギュロンの制御因子の探索と機能検証を進める。前年度に取り組めなかつたベンサミタバコー過的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を行う。道管細胞分化抑制変異体について、原因遺伝子の機能解析によって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 取得した結合親和性定量データをもとに、VNS - シス配列の協調進化のキーイベントを探る。 |
| 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を構築する。さらに、ベンサミタバコー過的誘導系を用いた再構築実験によってモデルの妥当性の検証に取り組む。数理モデルの構築にあたっては、当研究室所属の津川暁特任助教の協力を仰ぐ。 |

10. 研究発表（令和元年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件 / うち国際共著論文 0件 / うちオープンアクセス 2件）

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Tamura Taizo, Endo Hitoshi, Suzuki Atsunobu, Sato Yutaka, Kato Ko, Ohtani Misato, Yamaguchi Masatoshi, Demura Taku | 4. 卷 100 |
| 2. 論文標題 Affinity based high resolution analysis of DNA binding by VASCULAR RELATED NAC DOMAIN7 via fluorescence correlation spectroscopy | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 The Plant Journal | 6. 最初と最後の頁 298 ~ 313 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/tpj.14443 | 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 Kunieda Tadashi, Hara-Nishimura Ikuko, Demura Taku, Haughn George W | 4. 卷 61 |
| 2. 論文標題 Arabidopsis FLYING SAUCER 2 Functions Redundantly with FLY1 to Establish Normal Seed Coat Mucilage | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Plant and Cell Physiology | 6. 最初と最後の頁 308 ~ 317 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/pcp/pcz195 | 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 Kaga Yuki, Yokoyama Ryosuke, Sano Ryosuke, Ohtani Misato, Demura Taku, Kuroha Takeshi, Shinohara Naoki, Nishitani Kazuhiko | 4. 卷 11 |
| 2. 論文標題 Interspecific Signaling Between the Parasitic Plant and the Host Plants Regulate Xylem Vessel Cell Differentiation in Haustoria of <i>Cuscuta campestris</i> | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Frontiers in Plant Science | 6. 最初と最後の頁 193 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fpls.2020.00193 | 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 Hirai Risaku, Higaki Takumi, Takenaka Yuto, Sakamoto Yuki, Hasegawa Junko, Matsunaga Sachihiro, Demura Taku, Ohtani Misato | 4.巻 9 |
| 2.論文標題 The Progression of Xylem Vessel Cell Differentiation is Dependent on the Activity Level of VND7 in <i>Arabidopsis thaliana</i> | 5.発行年 2019年 |
| 3.雑誌名 Plants | 6.最初と最後の頁 39 ~ 39 |
| 掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/plants9010039 | 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4件(うち招待講演 2件 / うち国際学会 3件)

| |
|---|
| 1.発表者名 Taku Demura |
| 2.発表標題 Functional Conservation of VNS NAC Transcription Factors That Regulate Cell Wall Formation and Programmed Cell Death in Land Plants |
| 3.学会等名 Marchantia Workshop 2019(招待講演)(国際学会) |
| 4.発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1.発表者名 Taku Demura |
| 2.発表標題 Functional Analysis of Polygalacturonases During Water-Conducting Cell Formation Required for Plant Adaptation to Land |
| 3.学会等名 Carbohydrate-Active Enzymes for Glycan Conversions (Gordon Research Conference)(招待講演)(国際学会) |
| 4.発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1.発表者名 Nobuhiro Akiyoshi, Taizo Tamura, Misato Ohtani and Taku Demura |
| 2.発表標題 EVOLUTIONAL CHANGES IN CIS-ELEMENT BINDING AFFINITY OF VNS FAMILY TRANSCRIPTION FACTORS, MASTER REGULATORS OF SECONDARY CELL WALL FORMATION |
| 3.学会等名 XV Cell Wall Meeting(国際学会) |
| 4.発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 地福海月, 國枝正, George W. Haughn, 西村いくこ and 出村拓 |
| 2. 発表標題 木部道官細胞分化におけるユビキチンE3リガーゼFLYの発現制御機構の解析 |
| 3. 学会等名 日本植物学会第83回大会 |
| 4. 発表年 2019年 |

〔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

〔国際研究集会〕 計1件

| | |
|---|--------------|
| 国際研究集会 France-Japan Plant Cell Wall Workshop "Pectin Lovers Meeting" | 開催年 2019年 |
|---|--------------|

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 | - | - | - |
| フランス | CNRS | - | - | - |
| 中国 | 浙江農林大学 | 中国林業科学院 | - | - |
| ドイツ | MPI | - | - | - |
| - | - | - | - | - |
| - | - | - | - | - |

1 4. 備考

-