

様 式 F - 7 - 1

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）実施状況報告書（研究実施状況報告書）（令和元年度）

			機関番号	1 4 6 0 3
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	助教		
	氏名	國枝 正		

1．研究種目名 基盤研究(C)(一般) 2．課題番号 18K06289

3．研究課題名 植物細胞の分化に伴うセルロース合成酵素の細胞内動態変化

4．補助事業期間 平成30年度～令和2年度

5．研究実績の概要

植物細胞壁の主要な構成成分であるセルロース微繊維は、セルロース合成酵素によって細胞膜上で合成される。細胞の成長中および成長後にそれぞれ形成される一次細胞壁と二次細胞壁には、独立したタイプのセルロース合成酵素が関与する。植物細胞は成長に合わせてこれらセルロース合成酵素のタイプを使い分けているが、セルロース合成酵素の細胞膜への局在制御が細胞の分化状態によってどのように制御されるかは不明な点が多い。本研究では、セルロース合成酵素の局在制御を担う因子を同定し、その機能解析を通して細胞壁形成の分子メカニズムを明らかにすることを目的とする。

昨年度の解析で同定したセルロース合成酵素の局在制御を担う候補因子について、本年度は作出したシロイヌナズナ形質転換体などを用いながら当該因子の機能解析を行った。セルロース合成酵素上には候補因子が結合し得る配列モチーフが数カ所存在する。酵母ツーハイブリット法によって示唆された候補因子との物理的結合性の高い2カ所のモチーフについて、変異の有無による蛍光タンパク質と融合させたセルロース合成酵素の細胞内動態を観察した。変異を加えていない野生型タイプにおいてははっきりと観察できたゴルジ装置と考えられる細胞内の顆粒状構造が、モチーフ変異型タイプではほとんど観察できなかった。このことは、セルロース合成酵素のゴルジ装置での集積に候補因子との結合が必要であることを示唆している。一方、細胞の輪郭に沿った蛍光シグナルが野生型タイプで観察できているものの、その様子は典型的な細胞膜局在タンパク質のものとはやや異なるように見えた。そのため、動態観察に用いた蛍光タンパク質融合セルロース合成酵素と細胞膜タンパク質との共局在解析、および当該タンパク質によるセルロース合成酵素変異体の相補性試験などの準備を進めており、当初の計画に加えてそれらの解析についても次年度に行う。

6．キーワード

セルロース合成酵素 細胞壁 細胞内局在制御

7．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
セルロース合成酵素の局在制御メカニズムを明らかにすることを目的とする本研究において、これまでに実施した解析によって着目した候補因子が実際にセルロース合成酵素の局在制御において機能することを支持する結果を得られており、また、今後の解析に使用する植物試料の作出についてもほぼ計画通りに進んでいるため。

2 版

8．今後の研究の推進方策

作出した形質転換体を用いてこれまで成長中の細胞で行ってきたセルロース合成酵素の動態観察を、細胞分化によって一次細胞壁から二次細胞壁へと形成する細胞壁のタイプが変化する過程を経時的に追いつながら詳細に行う。また、酵母ツーハイブリット法で検証した候補因子とセルロース合成酵素との物理的相互作用について、共免疫沈降実験などの他の実験手法によっても検証する。さらに、候補因子変異体の細胞壁の表現型解析として、形状解析や構成成分分析を当初の計画に従って推進する。

9．次年度使用が生じた理由と使用計画

形質転換体の作出において時間を要したものがあり、それらの形質転換体を用いた実験に使用する物品をR2年度に購入することにしたため、次年度使用額が生じたこととなった。また、参加予定だった学術集会が中止となったため、その参加費用も次年度使用額となった。研究計画には当初のものから大きな変更はないため、これら次年度使用額を合わせて、実験に必要な物品の購入、および成果発表のために使用する。

10．研究発表（令和元年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 3件／うちオープンアクセス 1件）

1．著者名 Tadashi Kunieda、Ikuko Hara-Nishimura、Taku Demura、George W. Haughn	4．巻 61
2．論文標題 Arabidopsis FLYING SAUCER 2 Functions Redundantly with FLY1 to Establish Normal Seed Coat Mucilage	5．発行年 2020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 該当する

1．著者名 Kenji Yamada、Shino Goto-Yamada、Akiko Nakazaki、Tadashi Kunieda、Keiko Kuwata、Atsushi J. Nagano、Mikio Nishimura、Ikuko Hara-Nishimura	4．巻 3
2．論文標題 Endoplasmic reticulum-derived bodies enable a single-cell chemical defense in Brassicaceae plants	5．発行年 2020年
3．雑誌名 Communications Biology	6．最初と最後の頁 21
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s42003-019-0739-1	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 Akiko Nakazaki, Kenji Yamada, Tadashi Kunieda, Kentaro Tamura, Ikuko Hara-Nishimura, Tomoo Shimada	4. 巻 14
2. 論文標題 Biogenesis of leaf endoplasmic reticulum body is regulated by both jasmonate-dependent and independent pathways	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Plant Signaling & Behavior	6. 最初と最後の頁 1622982
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/15592324.2019.1622982	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 該当する

〔学会発表〕 計5件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 國枝正, 地福海月, George W. Haughn, 西村いくこ, 出村拓
2. 発表標題 VND7はユビキチンE3リガーゼFLY1およびFLY2の遺伝子発現を制御する
3. 学会等名 第61回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 前田和輝, 國枝正, 田村謙太郎, 西村いくこ, 嶋田知生
2. 発表標題 シロイヌナズナの根冠再外層の脱離を制御するペクチン修飾因子PME11の解析
3. 学会等名 第61回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 水穂そまれ, 前田徹, 上尾達也, 高木純平, 國枝正, 山田健志, 尾崎まみこ, 西村いくこ
2. 発表標題 アブラナ科が獲得した化学防御: 昆虫の摂食行動を抑制するERボディ系
3. 学会等名 第61回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2020年

2 版

1．発表者名 岸田佳祐，國枝正，細川陽一郎，出村拓
2．発表標題 VND7木部道管細胞誘導系を用いたシロイヌナズナの二次細胞壁パターン形成制御の解析
3．学会等名 日本植物学会第83回大会
4．発表年 2019年

1．発表者名 地福海月，國枝正，George W. Haughn，西村いくこ，出村拓
2．発表標題 木部道管細胞分化におけるユピキチン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

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

-

1 4．備考

-