

重力による植物根の形態変化における細胞接着因子 AGP の役割
Functions of arabinogalactan-proteins in modification of growth anisotropy of plant roots by gravity

小竹 敬久^{1*}、曾我 康一²

Toshihisa Kotake¹, Kouichi Soga²

¹埼玉大学 大学院理工学研究科

Graduate School of Science and Engineering, Saitama University

²大阪市立大学 大学院理学研究科

Graduate School of Science, Osaka City University

*〒338-8570 さいたま市桜区下大久保 255

電話 : 048-858-3955 FAX : 048-858-3384

Email: kotake@molbiol.saitama-u.ac.jp

Abstract

Arabinogalactan-proteins (AGPs), a family of proteoglycans, are commonly found in higher plants and implicated in many physiological processes such as cell adhesion, cell-to-cell signaling, cell elongation, cell death, and stress responses. To address the molecular functions of AGP in the regulation of growth anisotropy of roots induced by the gravity signal, we visualized AGP species with GFP in living *Arabidopsis* plants. The dynamic changes of the gravity-responsive AGP species in the localization and accumulation were observed under the hypergravity condition. The results indicate that the expression of AGP genes is regulated by the magnitude of gravity. In the future study, the molecular functions of AGPs in the growth anisotropy should be clarified.

Key Words: Arabinogalactan-protein, gravity-response, and growth anisotropy

1. 背景及び目的

AGP は植物に普遍的に存在する分子で、重量の 90%以上を占める糖鎖と 10%を占めるコアプロテインで構成される。コアプロテイン部分は、遺伝情報の少ないシロイヌナズナでも少なくとも 40 種類以上あり [1]、それぞれ遺伝子にコードされている。コアプロテインの配列、糖鎖構造はバラエティーに富んでおり、全体として複雑かつヘテロな構造をとる [2-4]。AGP は成長、生殖、形態形成など様々な生理現象に関わること、分子種に

より異なる生理機能を持つことが報告されているが、分子種と生理機能との関係付けはほとんどなされていない。

植物の成長は重力の大きさにより制御される。微小重力環境下では植物の細胞は細く長くなり、逆に過重力環境下では太く短くなることが知られる [5]。しかしながら、重力による細胞成長の制御機構には未だ不明な点が多い。

財団法人日本宇宙フォーラムより平成 18 年度から 20 年度の期間で、「重力による植物根の形態変化における細胞接着因子 AGP の役割」と題した研究で助成を受けた。本助成により実施した研究の成果を報告する。

*〒338-8570 さいたま市桜区下大久保 255
電話 : 048-858-3955 FAX : 048-858-2112
Email : kotake@molbiol.saitama-u.ac.jp

2. 研究成果

(1) 重力応答 AGP の同定

シロイヌナズナの AGP 分子種のうち、相対的な発現量が高い 14 の AGP 分子種について、過重力条件下における発現量変化を解析した。シロイヌナズナの過重力処理は遠心分離機を利用した遠心過重力により行い、発現量は逆転写により合成した cDNA を定量的 PCR にかけることで詳細に調べた。300 g、12 時間の過重力処理により、クラシカル AGP 1 種、AG ペプチド 1 種の合計 2 種の AGP 分子種の発現量が顕著に低下した。これらはコアプロテイン構造の異なるタイプの AGP で、過重力による変化には様々な AGP 分子種が関与することを示唆された。また、別のクラシカル AGP 1 種、AG ペプチド 1 種、ファシクリン AGP 1 種は発現量が高く、主要 AGP とした。

(2) AGP 分子種の可視化

シロイヌナズナから、各種 AGP のゲノミック遺伝子を単離し、コアプロテインに緑色蛍光タンパク質(GFP)を連結した AGP-GFP コンストラクトを作成した(図 1)。このコンストラクトは、2 kb 程度のプロモーター領域と 1 kb 程度の 3'側領域を含んでおり、本来の AGP 分子種の発現が反映されるように設計されている(Fig. 1)。AGP-GFP 導入シロイヌナズナでははっきりとした GFP シグナルが観察され、5 種類の AGP 分子種が可視化されたことを確認した。

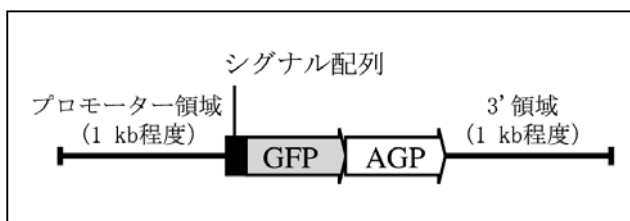


Fig. 1 AGP-GFP コンストラクトの模式図

本来の発現が反映されるよう、コンストラクトには 2 kb 程度のプロモーター領域と 1 kb 程度の 3'側領域が含まれる。

(3) AGP 分子種の発現・局在

5 種類の AGP-GFP の蛍光シグナルを生きたシロイヌナズナの根で観察したところ、分子種により発現部位や発現時期が異なることがわかった。ある分子種は根の分裂組織の細胞板に局在し分裂後速やかに消失する一方で、別の分子種は分裂組織では発現せず、分裂が終わった伸長組織域で強く発現していた。このような分子種による発現部位の違いは本研究で初めて明らかになった。興味深いことに、同じカテゴリー(クラシカル AGP、AG-ペプチド、ファシクリン様 AGP)に分類される AGP 分子種でも発現部位や発現時期は明らかに異なっていた。

遠心過重力条件下で AGP 分子種の発現・局在を観察したところ、2 種類の AGP が植物体地上部で明確な発現変化を示した。植物の細胞は重力の大きさに応じて成長や形態を変化させることが分かっており[5]、AGP がこれに関与している可能性が示唆された。

3. 考察

(1) AGP を可視化した意義と解決すべき問題

本研究では、シロイヌナズナの芽生えで比較的発現量が高い主要 AGP と過重力環境で発現が変化する重力応答 AGP、計 5 種類を GFP により可視化した。AGP はコアプロテインの配列から、クラシカル AGP、AG-ペプチド、ファシクリン様 AGP などに分類されるが、コアプロテインの構造・配列は発現部位や発現時期と相関がなく、むしろ様々なタイプの AGP が同じ生理現象に関わっていることが示唆された。これまで、内在性の発現を反映させた AGP 可視化の例はなく、AGP-GFP 導入植物は、今後、AGP の生理機能をリアルタイムで解析する有効なツールとなると期待される。

AGP は糖鎖が重量の 90%以上を占めるプロテオグリカンであることから、遺伝子発現だけでその生理機能を推測することは危険である。実際、植

物には AGP の糖鎖代謝酵素が多数存在し[6, 7]、生体内で活発に代謝・分解されている。遺伝子発現や細胞内局在に加えて、今後は抗重力反応における AGP 糖鎖の構造変化も調べたい。

(2) 宇宙実験を目指して

本研究の最終的な目標は、地上への進出の際に、植物が発達させた抗重力応答機構を解明することである。今回我々は、地上重力 (1 g 重力) と異なる重力環境として遠心過重力環境を利用したが、原始的な植物が生育していた水中環境はむしろ微小重力に近い。今後は、国際宇宙ステーションなどの微小重力環境を利用して同様の実験を行うことを検討したい。宇宙実験の実施には、実験作業の簡略化や装置のコンパクト化、適切な対照実験の設定などの課題を解決しなければならない。

4. 謝辞

本研究の推進に対する日本宇宙フォーラムの支援に感謝する。

参考文献

- [1] C.J. Schultz, M.P. Rumsewicz, K.L. Johnson, B.J. Jones, Y.M. Gaspar, A. Bacic: Using genomic resources to guide research directions. The arabinogalactan protein gene family as a test case, *Plant Physiol.*, **129**, pp.1448-1463 (2002).
- [2] G.B. Fincher, B.A. Stone, A.E. Clarke: Arabinogalactan-proteins: structure, biosynthesis, and function, *Annu. Rev. Plant Physiol.*, **34**, pp.47-70 (1983).
- [3] 円谷陽一: “植物細胞間マトリックスの構造と機能”、*化学と生物*、32 巻、pp.2-3 (1994).
- [4] Y. Tsumuraya, K. Ogura, Y. Hashimoto, H. Mukoyama, S. Yamamoto: Arabinogalactan-proteins from primary and mature roots of radish (*Raphanus sativus* L.), *Plant Physiol.*, **86**, pp.155-160 (1988).
- [5] T. Hoson, K. Soga: “New aspects of gravity

responses in plant cells”, *Int. Rev. Cytol.*, **229**, pp.209-244 (2003).

[6] T. Kotake, S. Dina, T. Konishi, S. Kaneko, K. Igarashi, M. Samejima, Y. Watanabe, K. Kimura, Y. Tsumuraya: Molecular cloning of a β -galactosidase from radish that specifically hydrolyzes β -(1 \rightarrow 3)- and β -(1 \rightarrow 6)-galactosyl residues of arabinogalactan-protein, *Plant Physiol.* **138**, pp.1563-1576 (2005).

[7] T. Kotake, K. Tsuchiya, T. Aohara, T. Konishi, S. Kaneko, K. Igarashi, M. Samejima, Y. Tsumuraya: An α -L-arabinofuranosidase/ β -D-xylosidase from immature seeds of radish (*Raphanus sativus* L.). *J. Exp. Bot.* **57**, pp.2353-2362. (2006).