

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

Abstract

Growth anisotropy of plant roots alters in response to the magnitude of gravity, and is regulated at least partially by cell-to-cell adhesion. Arabinogalactan-protein (AGP) is a proteoglycan found on the cell surface in higher plants. In this research project, the molecular functions of AGP in the modification of growth anisotropy of roots induced by the gravity signal will be investigated. Gravity-responsive AGPs whose expressions are changed in response to the gravity signal and major AGPs that are expressed at high level in roots will be identified in *Arabidopsis* based on the expression profiles determined by microarray and quantitative-PCR analyses. The gravity-responsive and major AGPs will be visualized with a green fluorescence protein in *Arabidopsis*. The dynamic changes of the gravity-responsive and major AGPs in the localization and accumulation will be examined under the hypergravity condition. Furthermore, the physiological importance of the AGPs in the gravity response will be analyzed using *Arabidopsis* with loss-of-function mutation in the AGP genes caused by T-DNA insertion. These experiments will clarify the molecular functions of the AGPs and provide an insight into the mechanism for modification of growth anisotropy of roots in response to the gravity signal.

要旨

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[1]。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ている。今回は平成18年度に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:048-858-3384

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

1. AGPの基本性質

研究成果を報告する前にアラビノガラクトタン-プロテイン (AGP) の基本的な性質や機能について説明したい。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、それぞれ遺伝子にコードされている。AGP は、コアプロテインがプロリン、セリン、スレオニンに富む点、糖鎖の基本骨格が β -3,6-ガラクトタンである点は分子種を越えて共通しているものの、コアプロテインの配列、糖鎖主鎖・側鎖の長さ、構成糖の比率 (グルクロン酸、フコースなどの存在) 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 (Fig. 1)。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。蛇足であるが、AGP はアラビアゴムなどの糊化剤や漢方薬の成分など、身近な生活でも利用されている。

2. 研究の背景

植物は太古の昔に陸上に進出した時から、地上重力 (1 g 重力) に抗して自らの体を支えるべく、抗重力機構を発達させてきたと考えられている。植物では一つ一つの細胞を取り囲む細胞壁が植物体を支えており、抗重力反応では細胞壁が中心的な役割を果たす。AGP は植物に普遍的に見られる細胞壁成分であるが、水中生活を送る植物や動物、細菌からは見つかっていない。また、AGP は植物体にかかる物理的なストレスに応じて発現が変化することが知られ、例えば木本植物では植物体を曲げたときに生じるテンションに応じて、数種の AGP 分子種

の発現が変化する。AGP は細胞壁の構築や細胞接着に関係した機能を持つことが報告されており、重力による成長変化では、特定の AGP 分子種が成長方向 (伸長成長と肥大成長) の制御に関わることが強く予想される。しかしながら、40 種類以上ある AGP は発現部位が重複しており、一つ一つの分子種について重力による成長制御への関与を調べることは困難である。そこで、(1) シロイヌナズナのゲノムから重力により発現が変化する AGP (重力応答 AGP) と相対的な発現量が高い AGP (主要 AGP) を抽出することと、(2) 重力応答 AGP や主要 AGP を緑色蛍光タンパク質 (GFP) で可視化し、根の過重力応答における AGP 分子種の挙動変化を明らかにすることで、植物の抗重力機構の一端を解明することを目的とした。

3. 平成 18 年度の研究成果

(1) 重力応答 AGP と主要 AGP の同定

シロイヌナズナではマイクロアレイにより網羅的に解析された発現データが蓄積されており、AGP 分子種についても各種組織、生育条件における発現量が明らかにされている。このうち、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 (Fig. 2)、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) 重力応答 AGP と主要 AGP の可視化

AGPのコアプロテイン遺伝子にGFPを連結した AGP-GFP コンストラクトの作成を進めている。シロイヌナズナからゲノミック PCR により、プロモーター領域を含んだ AGP コアプロテインのゲノミック遺伝子を単離し、遺伝子工学的な手法で GFP 遺伝子を導入した。現在はシロイヌナズナへの遺伝子導入を行っており、今年度中には2種類の重力応答 AGP と3種類の主要 AGP を可視化した植物が得られる予定である。AGP-GFP 植物では、生きたまま特定の AGP 分子種の発現部位や局在を観察することが可能である。重力応答 AGP と主要 AGP、合計5種類の AGP 分子種の挙動から抗重力反応における AGP の分子機能が明らかになると期待される。

4. 宇宙実験を目指して

地球上では、遠心過重力は植物の抗重力機構を調べる上で有効なアプローチである。植物が発達させた抗重力機構の生物学的な

意義をより明確に明らかにするためには、地球上では作り出すことが出来ない微小重力環境での反応を解析する必要がある。宇宙の微小重力環境下での実験を実施するには、地上で簡便に実施できる過重力実験で実験結果を蓄積するとともに、宇宙実験での作業の簡略化、装置のコンパクト化などを検討する必要がある。19, 20年度はこれらの課題にも取り組みたい。

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] T. Hoson, K. Soga: “New aspects of gravity responses in plant cells”, *Int. Rev. Cytol.*, 229, pp.209-244 (2003).
 [2] 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).

図の説明

Fig. 1 AGP の糖鎖構造

AGP の糖鎖の基本骨格は、β-1,3-ガラクトランにβ-1,6-ガラクトシル側鎖が結合したβ-3,6-ガラクトラン（グレー）で、末端に様々な糖が結合する。ダイコン由来 AGP のモデル構造を示した[2]。

Fig. 2 AGP 分子種の種類

AGP はコアプロテインの構造から、クラシカル AGP、AG ペプチド、ファシクリン様 AGP 等に分類される。模式的な構造を示した。

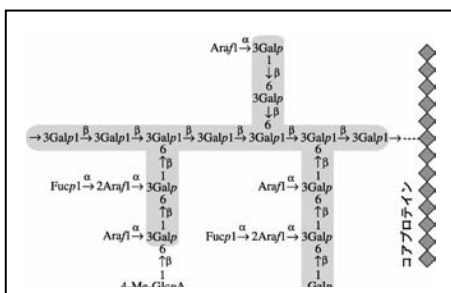


図1

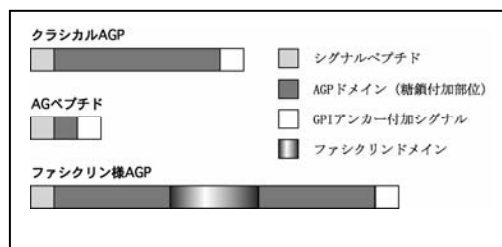


図2