## 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<sup>1\*</sup>、曽我 康一<sup>2</sup> Toshihisa Kotake<sup>1</sup>, Kouichi Soga<sup>2</sup>

<sup>1</sup>埼玉大学 大学院理工学研究科
Graduate School of Science and Engineering, Saitama University
<sup>2</sup>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 cells alters in response to the magnitude of gravity. 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 examined the effects of hypergravity on expression of AGP species in *Arabidopsis* plants. Several AGP species including classical AGP, AG-peptide, and fasciclin-like AGP showed decreased expression under hypergravity conditions. Visualization of the AGP species with GFP revealed their tissue-specific expression in the roots.

## 要旨

植物の細胞成長は重力の大きさに応じて変化する。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 [1]。AGP は植物に普遍的に存在する分子で、細胞接着、細胞間情報伝達、細胞成長、細胞死などに関与することが知られている。しかしながら、AGP には分子種が多く機能的な重複があるため、個々の AGP 分子種の機能は明らかにされていない。我々は AGP による細胞成長の制御機構の一端を明らかにすべく、異なる重力環境下における AGP 分子種の発現や局在を調べている。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」と題した研究で財団法人日本宇宙フォーラムより助成を受けている。今回は平成19年度に実施した研究の成果を報告する。

### 1. 研究の背景

アラビノガラクタン-プロテイン(AGP)は重量の 90%以上を占める糖鎖と 10%を占めるコアタンパク質で構成される植物のプロテオグリカンである。一般にコアタンパク質はヒドロキシプロリンやセリン、トレオニンに富み、N 末端には分泌シグナルを、C 末端には原形質膜にアンカリングされる GPI アンカーシグナルを持つ。成熟した AGP は細胞表面(原形質膜上)や細胞壁中に存在すると考えられている。AGP 糖鎖の基本構造は  $\beta$ -1,3-ガラクタンを主鎖、 $\beta$ -1,6-ガラクタンを側鎖とした  $\beta$ -3,6-ガラクタンで、側鎖には  $\beta$ -7ラビノース、グルクロン酸、 $\beta$ -4メチルグルクロ

ン酸、L-フコースなどが結合する[2,3]。AGP 糖 鎖の構造は複雑かつヘテロであり、組織やエイジ によって変化する [4]。AGP は、細胞接着、細胞 分化、成長、細胞死、ストレス耐性など、植物の 様々な現象に関わることが報告されているが(図 1)、コアタンパク質をコードする AGP 遺伝子は ゲノムの小さいシロイヌナズナでも 40 種類以上 存在し[5]、分子種間で発現部位が重複している こともあり、個々の分子機能や生理機能はほとん ど明らかにされていない。

我々の最近の研究で、コアタンパク質遺伝子の特定部位に緑色蛍光タンパク質 (GFP) 遺伝子を挿入することで、AGP 分子種を可視化できることがわかった。可視化した AGP (AGP-GFP 融合タンパク質) は生きた植物 (シロイヌナズナ) で

\*〒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

観察することができ、環境因子に応答した発現や 局在の変化をリアルタイムで観察することが可 能である。今回、植物の重力応答反応に重要と考 えられる AGP 分子種を可視化し、根における発 現・局在パターンを調べた。

## 2. 平成19年度の研究成果

## (1) 昨年度までの成果

網羅的な遺伝子発現解析により、シロイヌナズナ芽生えで相対的な発現量が高い AGP(主要 AGP)と遠心過重力処理により発現量が低下する AGP (重力応答 AGP)をそれぞれ3種同定した。重力応答 AGP には、クラシカル AGP、AG-ペプチド、ファシクリン様が含まれており、様々な分子種が植物の重力応答反応に関わることが示唆された。

#### (3) AGP 分子種の可視化

AGP 分子種はコアタンパク質遺伝子に GFP 遺伝子を連結することで可視化した。まずシロイヌナズナから PCR により、プロモーター領域、コアタンパク質コード領域、3'領域を含んだゲノミック遺伝子を単離し、コアタンパク質コード領域を GFP 遺伝子と連結した。構築したコンストラクト (AGP-GFP コンストラクト) は、もともとの AGP 遺伝子と同様の発現制御のもと、GFPにより可視化された AGP (AGP-GFP) を発現するよう設計されている。主要 AGP 3 種、重力応答 AGP 2 種について AGP-GFP コンストラクトを作成し、シロイヌナズナに遺伝子導入した。 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。

## (3) AGP 分子種の発現・局在パターン

AGP-GFP のシグナルをシロイヌナズナの根で比較したところ、分子種により発現部位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、同じクラシカルAGP に分類される AGP 分子種でも発現部位は異なっていた。現在、遠心過重力条件下で AGP 分子種の発現・局在の変化を解析している。重力応答AGP は過重力環境下で発現量が低下することがわかっており、重力による植物細胞の成長・形態の変化が AGP の変化で説明できる可能性がある。

## 3. 宇宙実験を目指して

植物の細胞は微小重力環境下では細く長くなり、逆に過重力環境下では太く短くなることが知られる[1]。AGP は原形質膜上で細胞壁成分と相互作用することで、成長方向(伸長成長か肥大成長か)や成長量の調節に関わっている可能性が高い。今回、5種類のAGP分子種を生きた植物で可視化することができた。今後も詳細な観察を重ね、過重力環境下におけるAGP分子種の変化と重力による成長の変化の因果関係を明らかにしたい。また、国際宇宙ステーションなどの微小重力環境下での実験に向けて、さらに作業の簡略化、実験装置のコンパクト化などを検討したい。

#### 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] 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] 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).

