Implication of Xyloglucan Related Protein (XRP) Family in Regulation of Plant Growth and Development

植物の成長・分化の制御におけるキシログルカン関連タンパク質(XRP)群の意味

Key Words: *endo-xyloglucan transferase, phytohormones, plant cell wall, plant growth, XRP, xyloglucan*

Morphogenesis in plants is expressed through drastic structural changes in individual cells generated at several meristems. Cell shape in a plant is constrained by the cell wall that is primarily composed of cellulose microfibrils and matrix polysaccharides. Xyloglucan is the major component of the matrix and is characterized as β -1,4-glucan backbone with xylosyl side chains attached to the O-6 position of about three fourths of the glucosyl residues. Some xylosyl side chains are further substituted with galactosyl or fucosyl-galactosyl residues. This polysaccharide partially binds tightly to the crystalline cellulose microfibrils *via* extensive hydrogen bondings and functions as a cross-link between the microfibrils. As a result, the two polysaccharides form an interwoven architecture of xyloglucan-cellulose framework, which provides the plant cell wall with its distinguishing viscoelastic properties. Thus, morphological changes in plant cells require the framework to be continuously reconstructed so that newly secreted wall material may be integrated into the existing framework. This reconstruction process must include splitting and reconnection reactions of the xyloglucan cross-links.

It was not until 1992 that an enzyme responsible for rearrangement of xyloglucan cross-links was purified from the cell wall space of azuki bean seedlings and termed endoxyloglucan transferase [Nishitani, K. *et al.* (1992) *J. Biol. Chem.* **267**, 21058–21064]. This enzyme catalyzed both splitting of β -1,4-glucosyl linkages in the xyloglucan backbone and reconnection of the split terminus to the non-reducing terminus of another xyloglucan molecule, thereby mediating molecular grafting reaction between xyloglucans. Isolation of the cDNA encoding the azuki bean transferase revealed a structural similarity to a xyloglucan-specific endo β -1,4-glucanase isolated from the nasturtium plant [deSilva *et al.* (1993) *Plant J.* **3**, 701–711, Okazawa *et al.* (1993) *J. Biol. Chem.* **268**, 25364–25368]. Furthermore, the nasturtium glucanase was shown to exhibit transferase activity under certain conditions. These early findings were followed by identification by several research groups of many cDNAs encoding proteins structurally related to the azuki bean transferase and the nasturtium glucanase. At present, ten cDNAs for the related proteins have been isolated from the *A. thaliana*, a model plant used in plant molecule biology. Since each member of this family has been shown to ex-

一般に植物の形態形成は、限られた特定の分裂組織で生まれた細胞それぞれが著しく形態を変化させる過程を通して表現される現象である。植物の細胞形態は、基本的にはセルロース微繊維とマトリックス多糖から構成されている細胞壁により規定されている。キシログルカンはマトリックス多糖の主要成分の一つで β -1,4-グルカン主鎖のグルコシル残基のほぼ3/4がO-6位でキシロース側鎖を持つ。キシロース側鎖の一部には更にガラクトース或いはフコシルガラクトース側鎖が付く。この多糖鎖の一部は結晶性のセルロース微繊維に水素結合で強固に結合し、セルロース微繊維間の架橋となり、キシログルカン・セルロース枠組みと呼ばれる網状構造を構築している。この枠組みにより植物細胞壁は固有の独特な粘弾性を有することとなる。したがって、植物細胞の形態が変化するためにはこの枠組みが連続的に再編成され、新しく分泌される細胞壁成分が既存の細胞壁の枠組みの中に組み込まなければならない。この再編過程にはキシログルカン架橋の切断と再結合反応が含まれる筈である。

1992年になって、キシログルカン架橋の再編に関与する酵素がアズキ芽生えの細胞壁画分より単離されエンド型キシログルカン転移酵素と命名された [Nishitani, K. *et al.* (1992) *J. Biol. Chem.* **267**, 21058–21064]。この酵素はキシログルカン主鎖中の β -1,4-グルコシル結合をエンド型の様式で切断し、その切断端を他のキシログルカン分子の非還元末端に結合することにより、キシログルカン分子鎖の繋ぎ換えを触媒する。アズキ由来の転移酵素のcDNAが単離され、構造が明らかになると、その構造がナスタチウムという植物由来のキシログルカン特異的エンド β -1,4-グルカナーゼと類似していることが明らかとなった [deSilva *et al.* (1993) *Plant J.* **3**, 701–711, Okazawa *et al.* (1993) *J. Biol. Chem.* **268**, 25364–25368]。さらに、ナスタチウムのグルカナーゼはある条件下では転移酵素活性を示すことが示された。これら、初期の発見に続いて、アズキの転移酵素やナスタチウムのグルカナーゼと構造的に類似のタンパク質をコードするcDNAが幾つもの研究グループにより明らかにされた。現在のところ植物の分子生物学のモデル植物として用いられているシロイヌナズナからでは10種の関連タンパク質のcDNAが単離さ

hibit either hydrolase or transferase activity toward xyloglucans, the term "xyloglucan related protein (XRP)" has been proposed for this family [Nishitani, K. (1995) J. Plant Res. **108**,137-148].

One of the conserved amino acid sequences, D-E-I-D-I/F-E-F-L-G, found in XRP members is also conserved in several bacterial endo- β -1,3-1,4-glucanases. Since conversion of the second glutamic acid residue in this motif to glutamine by a site directed mutagenesis yielded a completely inactive recombinant enzyme, the glutamic acid residue was considered to be the most likely candidate for the acid catalyst [Juncosa, M. *et al.* (1994) J. Biol. Chem. **269**, 14530-14535]. These findings strongly suggest that the motif, D-E-I-D-I/F-E-F-L-G, in plant XRPs also serves as the catalytic center for splitting of β -1,4 glucosyl linkages in xyloglucans in both actions of hydrolase and transferase.

Recently, gene expression of some members of the XRP gene family was shown to be up-regulated by auxin and brassinosteroids, typical phytohormones involved in regulating plant growth [Xu *et al.* (1996) Plant J. **9**, 879-889]. In *A. thaliana* seedlings, auxin up-regulated expression of TCH4, EXGT-A1 and XTR3 within 30 min of the administration of the hormone. Exposure of the seedling to brassinosteroid resulted in elevation of TCH4 gene expression with the mRNA accumulation peaking 2 h after treatment. *A. thaliana* CPD gene was shown to encode a cytochrome P450, which is a putative enzyme essential for biosynthesis of brassinosteroids [Szekeres *et al.* (1996) Cell **85**, 171-182]. The *A. thaliana cpd* mutant impaired in the brassinolide synthesis displayed dwarfism, and the phenotype could be completely restored to the wild type by application of brassinosteroids. In these mutants, expression levels of *meri-5* and TCH4 genes was significantly low compared to those in the wild type [Kauschmann *et al.* (1996) Plant J. **9**, 701-713]. On the other hand, expression of some members of this family was controlled by environmental signals, such as mechanical stress and light conditions, which affect patterns of morphogenesis.

These considerations strongly suggest that searching the signal transduction pathway involved in the XRP gene expressions, some of which is regulated by hormones and other signals, will offer an opportunity for a promising clue to exploring the missing link that comes between the upstream-regulatory genes and the final biochemical steps directly involved in cell wall metabolism.

Reported by Nishitani, Kazuhiko

College of Liberal Arts, Kagoshima University
Kagoshima 890, Japan
FAX: 81-99-285-8946

れている。この遺伝子ファミリーの各メンバーはキシログルカンに対して加水分解酵素活性または転移酵素活性を示すことから、この遺伝子ファミリーに対してキシログルカン関連タンパク質 (XRP) という用語が提唱されている [Nishitani, K. (1995) J. Plant Res. **108**,137-148] .

XRP の各メンバー内で保存されているアミノ酸配列のモチーフ D-E-I-D-I/F-E-F-L-G は数種の細菌のエンド β -1,3-1,4-グルカナナーゼ内にも保存されている。このモチーフ内の2番目のグルタミン酸残基を部位指定遺伝子突然誘発によりグルタミン残基に変えると、完全に活性を失った形質転換タンパク質が生成したことから、このグルタミン酸残基が最も有力な触媒候補であろうと考えられている [Juncosa, M. *et al.* (1994) J. Biol. Chem. **269**, 14530-14535] . これらの知見から、XRP で保存されているモチーフである D-E-I-D-I/F-E-F-L-G は加水分解酵素、転移酵素何れにおいてもキシログルカン内の β -1,4-グルコシル結合の切断の活性中心として機能していると考えられる。

植物の成長制御に係わる代表的なホルモンであるオーキシンとブラシノステロイドにより発現の高まる遺伝子族のメンバーがあることが最近になって明らかとなった。シロイヌナズナの芽生えではオーキシンは投与後 30 分以内に TCH4, EXGT, XTR3 の発現を上昇させた [Xu *et al.* (1996) Plant J. **9**, 879-889]。シロイヌナズナの芽生えにブラシノステロイドを投与すると、TCH4 遺伝子の発現が上昇し、mRNA の蓄積が2時間後にピークに達した。また、シロイヌナズナの CDP 遺伝子はブラシノステロイドの生合成に必須の酵素と考えられているシトクロムP450 をコードしていることが明らかとなってきた [Szekeres *et al.* (1996) Cell **85**, 171-182]。ブラシノステロイド合成能を欠くシロイヌナズナ *cpd* 変異体は矮生を示し、ブラシノステロイド投与により完全に野生型の表現型に戻る。この変異体では *meri-5* や TCH4 遺伝子の発現レベルが野生型に較べ有意に低いことも明らかとなった [Kauschmann *et al.* (1996) Plant J. **9**, 701-713]。一方、XRP 族の中には物理的ストレスや光条件等、植物の形態形成の様式に影響を与える環境信号により制御されるものがあることも明らかとなった。

これらの知見から考えると、ホルモンなどのシグナルによる発現制御を受ける XRP 遺伝子族について、その信号伝達経路を探索することにより上流の制御遺伝子群と形態形成の最終段階に位置する生化学過程とを繋ぐ分子過程解明の重要な糸口が見つかるのではないかと思えてならない。

鹿児島大学教養部
西谷 和彦