

文部科学省科学研究費補助金 新学術領域研究  
植物の生命力を支える多能性幹細胞の基盤原理

# PSC

NEWS LETTER Plant Stem Cells

01

2018

March



MORISHIMA, Hiroko

# PSC

NEWS LETTER Plant Stem Cells

2018 March 01



## Contents

|                                |     |
|--------------------------------|-----|
| ● 巻頭言                          | 01  |
| ● 計画研究の紹介                      |     |
| A01: 幹細胞増殖                     |     |
| 「植物幹細胞の新生・維持に必要な非対象分裂機構の解明」    | 03  |
| 「リプログラミングによる植物幹細胞の新生機構の解明」     | 05  |
| 「幹細胞増殖を制御する植物ホルモンの機能解明」        | 07  |
| 「幹細胞新生のタイミングを制御する分子機構の解明」      | 09  |
| A02: 幹細胞性維持                    |     |
| 「植物幹細胞の多能性を維持するメカニズムの解明」       | 10  |
| 「植物幹細胞の一過性と永続性を制御する分子メカニズムの解明」 | 12  |
| 「多能性幹細胞の維持・再生機構の解明」            | 14  |
| 「長寿命樹木にみられる幹細胞ゲノムの多様性分析」       | 17  |
| ● 2017年度アウトリーチ活動               | 18  |
| ● 2017年度活動報告                   | 19  |
| ● 新学術領域研究国際活動支援による海外派遣滞在記      | 20  |
| ● 編集後記                         | 裏表紙 |

## Foreword 巻頭言

私は理学部出身だとよく間違えられます。おそらく細胞周期のような基礎研究の分野にどっぷり浸かっているからだと思いますが、実際は農学部出身で、学部生の頃は田植えをしたり、トラクターを動かしたりしたこともあります。そういう経歴からか、よく感じるのは基礎と応用という二者択一の考え方はおかしいということ。またそうやって二分してしまうとかえて視野を狭めてしまい、洞察の効いた研究はできないような気がします。とは言っても、人それぞれ基礎寄りか応用寄りか、というのはあるわけですが、大切なのはどちらも同じ線上に置くこと、そしてその線上で自分の立ち位置をよく見定めることのように思います。

さて新学術領域研究は、言うまでもありませんが、基礎研究の裾野を広げていくものです。本領域を申請する際にも、植物幹細胞の理解がいかに生物分野全般に新たな潮流を巻き起こすか、という点を訴えました。このような裾野の拡大は一つの方向性として非常に重要で、そこから真のブレイクスルーが生まれてくるのだと思います。一方で、上に書いたような基礎と応用をつなぐ「線」を思い起こすと、もう一つの方向性としてそういった軸も頭の片隅に置いておくのは大切でしょう。以前、本領域を立ち上げる際に動物の幹細胞研究者の方とディスカッションして、「植物ではESやiPS細胞のように自在に器官を作れないの？ 移植はなぜできないの？ 植物なら簡単にできそうだけど…」という話が出てきました。そう簡単に答えられる質問ではありませんが、このような問いに対しても複数の軸を頭の中に用意して自分の研究の立ち位置を俯瞰していると、早く答えにたどり着けるような気がします。最近の大型プロジェクトは現実的な成果や数字を要求されるものが多いですが、新学術領域では新たな発見に出会う喜びに素直に浸れるので、今からワクワクしています。これから私達が発見するキラキラと光るシーズが、将来予想もしなかったようなアウトプットに結びつくことを期待しています。

本領域の目標を一言で言うと、「植物幹細胞の特性を明らかにする」ということです。中でも増殖性、永続性、多能性といった側面にフォーカスして研究を進めていきます。幹細胞を生み出し、維持し続けるといった特徴は、植物独自の成長様式を支える最大の要因と言えます。ですので、究極的には、植物が地球上に繁茂する、また植物が進化の過程で繁栄してきた道りを理解することにつながります。一方で、「幹細胞とはなにか」という根源的な問いにも重要なヒントを与えてくれるものと信じています。というのは、動物の幹細胞研究のほとんどは培養系で行われており、生体内で幹細胞の挙動を理解しようとする研究は意外にもあまり進んでいないからです。特に、生体内で多能性を維持する、あるいは多能性を生み出す仕組みは、植物幹細胞の特性を明らかにすることによって格段に理解が進むと考えられます。まさに植物から動物分野に向けて発信できる、新たな概念の創出となります。

これまで3回にわたって、動物の幹細胞研究者を交えた「幹細胞研究会」を毎年開催してきました。その中でわかってきたのは、動植物に関わらず、研究者間で「多能性」などの言葉の使い方が異なり、言葉から生まれる概念にすれ違いが生じる、という点です。ではどうすれば良いか、ということですが、「それなら自分たちで定義してしまえばいい」というのが当座の結論です。定義した上で議論を戦わせ、その中で再定義していけば良いという考え方です。しかし、植物の場合は、例えば「分化能」という言葉を定義しようとしても、その根拠となる情報が全く足りません。ですので、本領域ではそういった情報を一つ一つ丹念に拾い上げていくところから始め、徐々に植物幹細胞の概念を具現化していきたいと考えています。

このように、本領域は真新しいキャンパスに絵を描き始めるところから始まるので、領域代表者はしっ

かり舵取りしないといけないと思っています。計画研究メンバー全員が一丸となって、同じ方向を向いて研究に取り組んでいきますので、皆様のご指導、ご鞭撻のほどよろしくご願ひ申し上げます。

2018年3月

新学術領域研究  
植物の生命力を支える多能性幹細胞の基盤原理  
領域代表

## 梅田 正明

奈良先端科学技術大学院大学  
バイオサイエンス研究科 教授



## 植物幹細胞の新生・維持に必要な非対称分裂機構の解明

ヒメツリガネゴケを用いた幹細胞非対称分裂機構の解明



研究代表者

五島 剛太

名古屋大学大学院理学研究科 教授

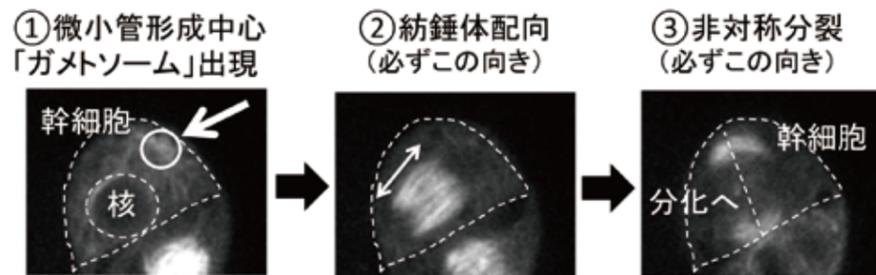
幹細胞の新生と維持にはしばしば「非対称分裂」(=2つの娘細胞が異なる性質を呈するような細胞分裂様式)を伴います。私たちは、動物に比べて植物では、この重要な機構に関する知見が十分に蓄積していないと認識しています。そこで私たちの研究グループでは、植物細胞が行う非対称分裂の一連の過程、すなわち「細胞極性の確立・分裂・分化と維持」機構の解明を通じて、植物生存の永続性を支える基盤となる植物幹細胞の新生と維持の分子基盤に迫ることを目指します。

私たちはこれまで、ヒメツリガネゴケにおいて誘導型RNAi系や細胞表層付近の微小管イメージング法など各種実験系を開発し、微小管制御因子の動態・機能解析を行ってきました (Nakaoka/Miki et al. *Plant Cell*. 2012; Miki et al. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2014; Yamada et al. *J Cell Biol*. 2017など)。実験材料としてのヒメツリガネゴケの特長を活かせば、網羅的逆遺伝学アプローチ、分子細胞生物学的解析により、動物の知見を当てはめることができない植物特有の非対称な細胞分裂の分子機構解明に挑めると着想しました。私たちの研究目標は以下の3点です。

- (1) 細胞分裂の非対称性を生む仕組みの解明。
- (2) 分裂後の細胞の非対称な運命を決定する仕組みの解明。
- (3) ヒメツリガネゴケを網羅的遺伝子ハンティングのプラットフォームとして領域内で提供し領域メンバーの研究推進に貢献すること。

これまでに、ヒメツリガネゴケの茎葉体幹細胞において紡錘体配向、非対称な細胞質分裂の様子をライブで捉えることに成功し、一連の過程に重要な機能を果たす新奇微小管形成中心「ガメトソーム」を発見しました (Kosetsu et al. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2017)。今後は、これらのデータを発展させ、ヒメツリガネゴケ幹細胞における網羅的逆遺伝学を主要なアプローチとした研究を推進します。現象の定量的理解のための解析的イメージング技術を開発するとともに、ヒメツリガネゴケの特性を生かし、微小管細胞骨格・細胞極性化関連遺伝子や、非対称分裂後の細胞分化に関わる可能性のある情報伝達関連遺伝子の網羅的破壊を行う予定です。

本研究の成功により、植物の永続的な成長・増殖を支える幹細胞システムについて、その重要要素である非対称分裂を分子レベルで明らかにすることができると期待しています。



図：新奇微小管系構造「ガメトソーム」によって制御されるヒメツリガネゴケ初期茎葉体幹細胞の非対称細胞分裂

## 植物幹細胞の新生・維持に必要な非対称分裂機構の解明

イネを用いた幹細胞非対称分裂機構の解明



研究分担者

佐藤 豊

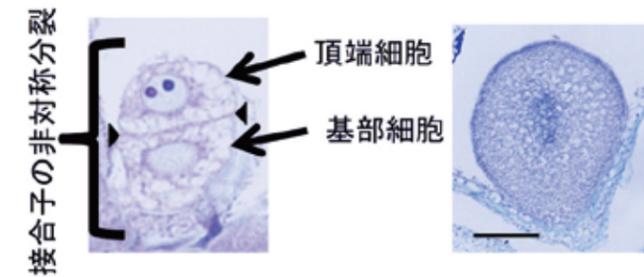
国立遺伝学研究所 教授

私たちの研究グループは、研究分担者として本新学術領域研究の計画研究「植物幹細胞の新生・維持に必要な非対称分裂機構の解明」(名古屋大学・五島代表)に参画している。私たちは、非対称分裂に機能することが予想されるMAP kinase情報伝達経路に関わるイネ突然変異系統を複数解析している。これらの突然変異は、球状型胚(globular embryo: gle)と呼ばれるタイプの変異型胚を形成する。gle胚においては、球状のまま野生型の球状胚期を超えても球状のまま細胞が増殖し明瞭な器官分化が観察できない。その結果、植物の幹細胞を含む二つの頂端分裂組織も形成されず、発芽も発根もしない。この材料の解析を軸に、イネの受精卵非対称分裂と胚における器官形成、特に幹細胞の形成と受精卵非対称分裂との関係を明らかにすることが本研究の目的である。

シロイヌナズナにおいて、このMAP kinaseが関わる経路が非対称分裂に機能することは詳細に明らかにされている。また、このMAP kinaseのシロイヌナズナ突然変異体では、接合子の非対称分裂が異常になることも知られている。ただし、この変異体では一部の変異型胚のみがイネのgle胚のように明瞭な器官分化が見られない胚を形成

する。このことから、接合子の非対称分裂と幹細胞を含む頂端分裂組織等の器官分化の関係ははっきりしていない。一方、同じMAP kinaseのイネオルソログの突然変異体gle4では、安定して球状型胚が形成される。そこで、gle4突然変異体の解析を行うことにより、非対称分裂と胚における幹細胞形成との関わりを明らかにできると考えた。また、gle4に類似した突然変異系統も多数存在しており、これらの解析を通して非対称分裂や幹細胞形成に関わるMAP kinase情報伝達の新規因子を明らかにすることも試みる。また、我々のグループでは、イネの胚において地上部幹細胞を欠失する多数の突然変異系統をこれまでに解析してきた。これらの材料も利用して、イネの幹細胞形成に関わる新規因子の同定も試みる。

計画代表の五島グループとの連携も計画している。イネで明らかになることが予想される接合子非対称分裂や幹細胞形成に関わる新規因子の機能を逆遺伝学的アプローチでの解析が容易なヒメツリガネゴケを用いて解析し、当該因子の非対称分裂や植物幹細胞形成における機能の普遍性を検討する。ヒメツリガネゴケを用いた研究は五島グループと連携して遂行する。



図：イネ接合子の非対称分裂と球状型

## リプログラミングによる植物幹細胞の新生機構の解明

根粒形成における幹細胞新生機構の解明



研究代表者

林 誠

理化学研究所環境資源科学研究センター チームリーダー

陸上植物、特に維管束植物はその胚発生の初期にシュート(茎・葉)と根を作る幹細胞をそれぞれ生み出し、一生の間維持することで特徴的なボディプランを形づくる。腋芽や側根などの側生器官についても、それぞれの幹細胞が茎頂および根端から派生し、未分化の状態に維持されていると考えられている。したがって維管束植物を形づくる器官は全て、胚発生で規定された幹細胞系譜に由来する。ところがマメ科植物における根粒の発生は明確に分化した皮層細胞に由来することから、根粒の幹細胞は分化細胞がリプログラミングにより新生したと言える。

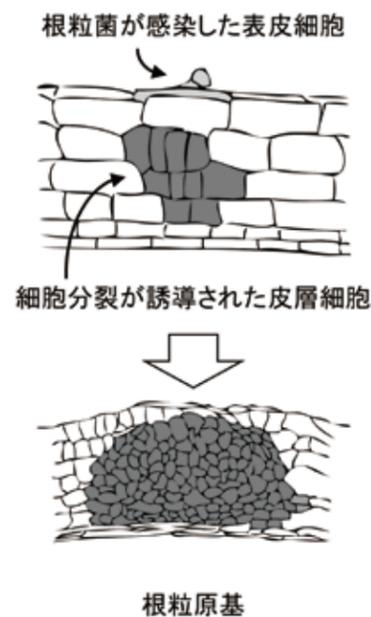
マメ科を含むマメ類の中でもブナ目・ウリ目・バラ目に属する植物種では根粒を形成するものが散在する。これらの植物を総称してアクチノリザル植物という。アクチノリザル植物の根粒は発生学のおよび解剖学的見地から側根の相同器官であると見なされる。またマメ科の根粒がグラム陰性細菌である根粒菌との共生によって誘導されることに対して、アクチノリザル植物のそれはグラム陽性細菌である *Frankia* 属との共生によるという違いがある。しかしながら上記3目にマメ目を加えた分類群(室素固定クレード)は単系統であり、根粒はこの系統で独立に複数回進化したものの、系統の基部で1回起こったと想定される進化の要因(predisposition)が、根粒という特異的な側生器官の新規獲得に重要であったと考えられる。

根粒菌の感染による皮層細胞分裂(図参照)に先立ち、マメ科植物の根では根粒菌の分泌するシグナル物質の受容と細胞内シグナル伝達が惹起される。興味深いことにこのシグナル伝達経路(共通共生経路)はアーバスキュラー菌根菌との共生にも必要であり、根粒進化の過程で流用(co-option)されたと考えられている。グロムス門に属する真菌であるアーバスキュラー菌根菌は陸上植物の大半と共生し、共通共生経路に関与する遺伝子は陸上植物に広く保存されている。この下流では *Nin* という転写因子遺伝子の発現が局所的に亢進され、結果として皮層細胞の分裂が誘導される。*NIN* は根粒形成に必要な転写因子であるが、アーバスキュラー菌根菌との共生には必要ない。したがって、*NIN* の機能発現こそが、根粒形成における幹細胞新生に特徴的な現象であると推測される。

そこで、1. *Nin* の下流でどのような遺伝子が働くことによって細胞分裂を誘導できるのか、2. *Nin* の上流でどのような遺伝子が働くことによって *Nin* の転写を制御するのか、という2点に焦点を絞り、*Nin* を中心とした遺伝子制御ネットワークを明らかにしたい。具体的には *Nin* の一過的発現誘導によるRNA-seqとChIP-seqをおこない、さらに *Nin* の発現する細胞に限定した1細胞解析の開発にも取り組む。加えて *Nin* の遺伝子発現調節領域に結合するタンパク質を網羅的に同定し、また皮層細胞におけるクロマチン構造のダイナミクスをATAC-seqなどで解析する。

以上の研究により、分化細胞から幹細胞を新生する機構を解明するとともに、進化の過程でクレードに特異的な新規形質を生み出す機構を解明することが、この研究計画の目的である。

(根粒の進化については以下の文章に詳細を記したのでご参照下さい) <http://leading.lifesciencedb.jp/4-e010/>



## リプログラミングによる植物幹細胞の新生機構の解明

基部陸上植物ゼニゴケにおける幹細胞新生と維持のメカニズム



研究分担者

石崎 公庸

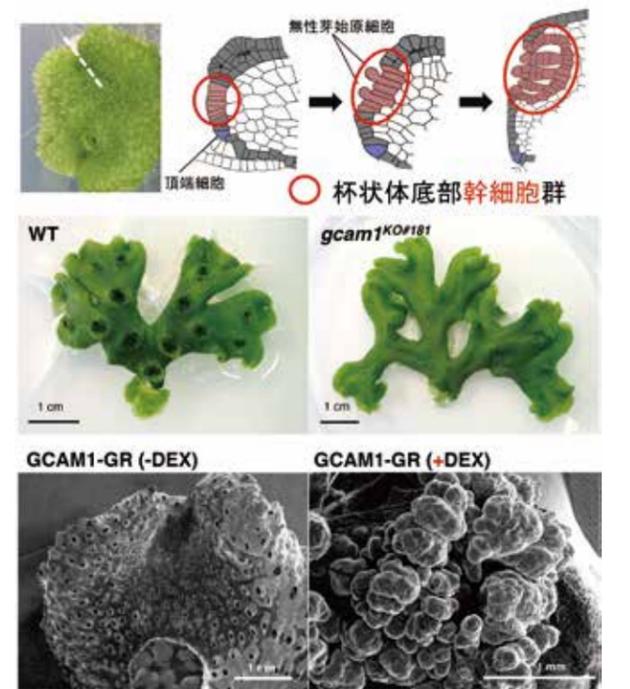
神戸大学大学院理学研究科 准教授

陸上植物進化の基部に位置するゼニゴケは、栄養成長期の葉状体上に杯状体という器官を形成し、内部に多数の独立したクローン個体(無性芽)を形成することで、無性的に増殖することができます。杯状体は葉状体頂端部の背側表皮細胞から分化し、無性芽始原細胞を次々と生み出す幹細胞群として振る舞います(図上段)。無性芽始原細胞は杯状体の中で細胞分裂を繰り返し、最終的に対称な位置に2つの成長点をもつ円盤状の無性芽となります。

近年の我々の研究から、杯状体の底部と発生初期の無性芽で高く発現し、杯状体の形成に必須の役割をもつR2R3-MYB型転写因子GCAM1が同定されました。GCAM1の機能喪失変異体では杯状体底部の幹細胞が全く形成されず、無性芽も形成されません(図中段)。またGCAM1の機能を人為的に誘導すると、葉状体の様々な組織分化が抑制され、未分化な細胞増殖が促進されます(図下段)。さらに増殖した未分化細胞塊でGCAM1の機能を停止すると、未分化な細胞塊の様々な場所から機能的な成長点をもつ多数の葉状体が形成されることを見出しました。これらの結果から、GCAM1は背側表皮細胞からの組織分化を抑制し、成長点を生み出すポテンシャルを備えた未分化な細胞の増殖を促進する機能をもつと考えています。

本研究では、近年急速に確立された半数体モデル植物ゼニゴケの実験系を活用し、特定の分化細胞で幹細胞増殖の鍵制御因子GCAM1が活性化するメカニズム、そしてGCAM1が幹細胞の増殖を促進するメカニズムを明らかにします。具体的には①GCAM1の発現を制御する上流因子の解析、②GCAM1機能誘導系におけるクロマチンダイナミクスと遺伝子発現制御機構の解析、の2つを軸に研究を展開していく予定です。GCAM1機能誘導系を材料に、ゼニゴケの幹細胞制御とクロマチン動態の関連について、上手く解析できる系を立ち上げることが喫緊の課題です。また現在までにGCAM1の他の杯状体・無性芽形成関連因子も単離しており、それらとGCAM1の間わりも解析していきます。

系統解析の結果、GCAM1は被子植物で茎頂メリステムと葉原基の間の幹細胞性を維持し新たなメリステム形成を促進するシロイヌナズナREGULATOR OF AXILLARY MERISTEMS(RAXs)やトマトBlindとオーソログの関係にあることが示唆されています。GCAM1の機能を解明し、腋芽や根粒形成など被子植物の様々な幹細胞新生の仕組みと比較することで、多様な陸上植物種に共通する幹細胞新生と維持の制御メカニズムを明らかにできると考えています。



ゼニゴケのクローン発生の際となる杯状体底部幹細胞群の鍵制御因子GCAM1の機能とは?

## 幹細胞増殖を制御する植物ホルモンの機能解明

茎頂幹細胞の分裂活性維持のためのサイトカニン作用調節メカニズム

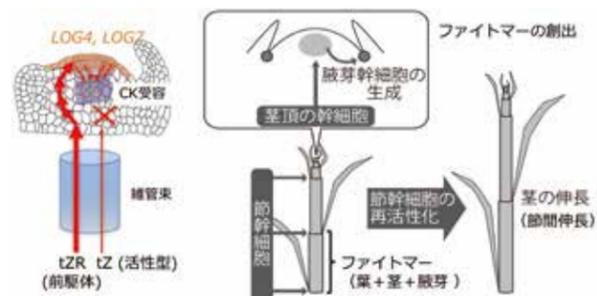
植物成長は茎頂幹細胞分裂を起点としたファイトマー創出と、節の細胞分裂と伸長を起点にした節間伸長の組合せにより、その永続性と可塑性が生み出されています。しかし、これら2つの細胞の特性と増殖性の維持に必須な制御システムについては、必ずしもまだよく理解されているとは言えません。幹細胞の数や分裂活性を厳密かつ柔軟に制御するしくみを理解するためには、そのしくみを支える情報分子として働く植物ホルモンの果たす役割を明らかにすることが重要であると考えています。そこで本計画研究班では、茎頂幹細胞維持と節間伸長にそれぞれ着目し、その増殖活性の制御における植物ホルモンの役割を分子レベルで解き明かすことを目的としています。班は榊原グループ（榊原均：研究代表者、木羽隆敏：連携研究者）と芦苺グループ（芦苺基行：研究分担者）から構成されており、榊原は茎頂幹細胞に、芦苺さんは節間伸長に焦点を当てた研究を展開します。

榊原グループではこれまでサイトカイニンの生合成と輸送システムについて、遺伝子レベルや分子レベルでの理解を目的に研究を進めて来ました。これまでの研究で茎頂の先端で働くサイトカイニンの活性化を行うLOGが、茎頂セントラルゾーン内に存在すると予想される多能性幹細胞自身、及びその近傍の細胞分裂活性の維持に必要であることを明らかにして来ました。実際に変異によりLOGの働きが低下することによって、茎頂分裂組織のサイズは小さくなります。

また欧米のグループらによって、茎頂におけるCLV3, WUS, サイトカニン受容体AHKやLOGなどの発現パターンを基にしたモデリング研究などにより、LOG4やLOG7によるL1層からのサイトカニンとCLV3のシグナルが茎頂幹細胞ニッチの維持に重要であることが示されています。ただ、LOGが鍵となる働きをしていることは明らかになった一方で、そこ（L1層）への前駆体の輸送、そしてLOGから受容体までのサイトカイニンの濃度勾配の実態と形成メカニズムについてはよくわかっていません。

例えば私たちの最近の研究成果の一つですが、維管束の道管内にはトランスゼアチンとその前駆体であるトランスゼアチンリポシドが輸送されていますが、変異体と野生型の接ぎ木実験によって、茎頂の幹細胞の増殖活性に作用できるのは前駆体として輸送されたサイトカニンのみであり、活性型で輸送されたものは茎頂幹細胞の細胞分裂を促進することはできないことがわかりました（図参照）。これは前駆体の形で茎頂のL1層に供給されたものがLOG依存的に細胞分裂活性の維持に関わっていることを示唆しています。つまり幹細胞の分裂活性維持に必要なサイトカイニンの供給には、LOGの空間的な配置だけではなく、そこへの基質の供給システムが非常に重要であることを意味していると言えます。

以上の状況を踏まえ、本研究では、茎頂幹細胞においてサイトカイニンの生合成と輸送システムが幹細胞周辺の空間領域でどのように配置され、幹細胞増殖の活性化のシグナルとして秩序立てられているかを明らかにします。具体的には、茎頂幹細胞ニッチでのCKグラジエントの実態と形成メカニズムを明らかにするために、グラジエントの可視化または定量化や、シミュレーションによる幹細胞機能における役割・律速段階を明らかにして行こうと考えています。



研究代表者  
**榊原 均**  
名古屋大学大学院生命農学研究科 教授

## 幹細胞増殖を制御する植物ホルモンの機能解明

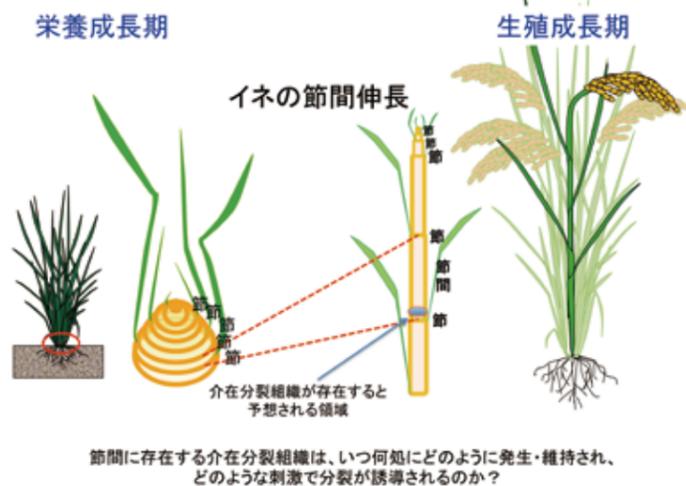
節間伸長を制御する介在分裂組織の分子メカニズム

春の野山で見られる「タケノコ」は、地下に存在する腋芽が急激に伸長し地上に出てきたシュートです。このシュートはその後も著しい茎伸長を続け、瞬間に樹高が十数メートルにもなる「竹」になります。竹の急激な茎伸長は、節と節に挟まれた領域（節間）における著しい細胞分裂と細胞伸長によって引き起こされます。この細胞分裂は、節間に存在する介在分裂組織が何らかの刺激によって活性化されることで誘導されます。介在分裂組織の活性化による節間伸長は竹に限らずイネ科植物によく保存された現象です。イネは栄養成長期に介在分裂組織を活性化せず節と節が隙間なく詰まった状態で存在していますが、生殖成長期では節間が何らかの刺激を受け取ることで介在分裂組織での急激な細胞増殖を開始し、その後の細胞伸長によって節間が伸長します（図）。これまでにイネ節間の介在分裂組織のおおよその位置は報告されていますが、介在分裂組織がいつ、どこに、どのように発生し、どう維持され、活性化されるのかは不明のままです。また、伸長能力を保持する節間も生長とともに分裂活性を失い、その後は二度と伸長することはありません。このことは分裂活性を維持できる期間が決まっていることを意味します。そこで本課題で

は、節間伸長に関わる介在分裂組織の発生、維持、活性化、不活性化といった一連の機構を明らかにしていくことで、イネ科植物の茎伸長の分子メカニズムを解明したいと考えています。具体的には、まず、細胞分裂マーカーを用いて、介在分裂組織がどこに発生して維持されるのか、分裂活性化の前後における遺伝子発現変動をRNA-seqにより解析しどのように活性化されるのかを明らかにしたいと考えています。また、介在分裂組織における分裂能消失のタイミングと遺伝子発現を解析し、分裂活性の保持と消失のメカニズムにも迫りたいと思います。さらに、これまでにいくつかの植物ホルモンがイネの節間伸長を制御することが報告されていることから、分裂組織を特定することで分裂組織と植物ホルモンの関係についても明らかにしたいと考えています。また分裂活性化の前後における遺伝子発現変動を解析し、既知の幹細胞系の維持機構と比較することで、節間における分裂制御メカニズムの特異性を明らかにしていきます。また野生種を含めて、イネには栄養成長期においても節間伸長を行うイネが存在します。イネの節間伸長の多様性を用いて介在分裂組織の制御に関わる遺伝子を同定し機能を明らかにしたいと思います。



研究分担者  
**芦苺 基行**  
名古屋大学生物機能開発研究センター 教授



# A01 幹細胞増殖

## 幹細胞新生のタイミングを制御する分子機構の解明

低分子シグナルが関与する制御系の解明



研究代表者

山口 信次郎

東北大学生命科学研究科 教授

植物がもつ永続的な生命力の要因の一つとして、植物の幹細胞が多能性を失うことなく維持される、という点が挙げられる。植物幹細胞は多様な細胞に分化する能力をもつが、このような多能性幹細胞が一生を通じて維持されるため、個体は長期にわたって器官発生を続けることができる。

植物の永続的な生命力を支えるもう一つの重要な要因は、発生様式に見られるモジュール性である。植物の地上部は、ファイトマーと呼ばれる葉、茎、腋芽から構成される基本単位を連結して成長する。葉の付け根の腋芽には幹細胞が存在し、この幹細胞から枝が成長し、新たな葉、茎、花などの各器官を生成する。ファイトマーが増えると腋芽幹細胞が増え、新たな枝が成長する。この繰り返しで植物個体は成長する。ファイトマーは茎の先端にある成長点（茎頂メリステム）の幹細胞から規則的に生み出される。各ファイトマーには腋芽の幹細胞が存在するので、植物は茎頂メリステムで幹細胞を増やし、腋芽幹細胞として植物体中に拡散していると考えられる。このような幹細胞の拡散も植物生存の永続性を理解する上で重要であるが、一定間隔でファイトマーが作られ、幹細胞が拡散する仕組みについては理解が進んでいない。

イネの *plastochron1(pla1)* 変異体<sup>[1]</sup> およびシロイヌナズナの *kluh(klu)* 変異体<sup>[2]</sup> は、一定期間に着ける葉の数が多い（葉間期が短い）突然変異体であり、腋芽幹細胞を生成する時間的間隔が短くなっている。これまでの研究から、*PLA1/KLU* 遺伝子は機能未知のシクロムP450酸化酵素（CYP78Aサブファミリー）をコードすることが明らかにされており、既知の植物ホルモンとは異なる何らかの低分子シグナルがこれらの表現型に関与している可能性が高いと考えられている。しかしながら、その化学的実体は解明されていない。

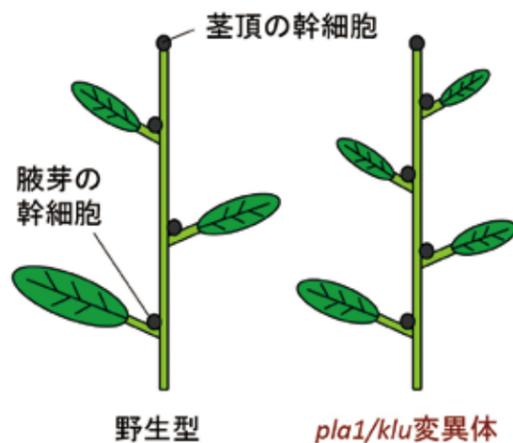
これまでに、CYP78Aの酵素機能について研究が行われている。トウモロコシのCYP78A1の組換え酵素に様々な基質を反応させたところ、CYP78A1は飽和脂肪酸の一種であるラウリン酸

の $\omega$ 位を酸化することが示された<sup>[3]</sup>。しかしながら、生成物である $\omega$ -ヒドロキシラウリン酸を投与しても *cyp78a* 変異体の表現型を回復させることはできなかった<sup>[4]</sup>。また、 $\omega$ -ヒドロキシラウリン酸の内生量は、ヒメツリガネゴケの *cyp78a* 二重変異体で有意に減少していなかった（未発表）。以上の結果から、 $\omega$ -ヒドロキシラウリン酸は真のCYP78Aシグナルではないと考えられる。

*PLA1* 遺伝子の同定以来、*PLA1* タンパク質の基質と生成物の化学的実体は10年以上不明のままである。当課題ではこの難題に挑戦し、低分子シグナルがどのように腋芽幹細胞新生のタイミングを制御しているのか、その分子機構の解明を目指したい。

- [1] Miyoshi et al. (2004) *PNAS*, 101: 875-880.
- [2] Wang et al. (2008) *Plant Cell*, 20:1231-1243.
- [3] Imaishi, et al., (2000) *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 64:1696-701.
- [4] Kai, et al. (2009) *Plant Biotechnol.* 26: 175-182.

**pla1/klu変異体＝葉間期が短い  
→ 腋芽幹細胞の増殖のタイミングが早い**



# A02 幹細胞性維持

## 植物幹細胞の多能性を維持するメカニズムの解明

多能性維持機構と花序のパターン形成



研究代表者

経塚 淳子

東北大学大学院生命科学研究科 教授

植物では、幹細胞集団が生み出され、それらが芽として成長し枝になるという過程が生涯にわたり繰り返され、枝分かれした複雑な構造の植物体ができあがる。一方、植物幹細胞には、花を咲かせることで活動を終えて消滅するという性質がある。すなわち、「無限の多能性」をもつ多能性幹細胞は次々に芽を作り、それらがある段階で「限定的な多能性」をもつ花幹細胞に切り替わり花が咲くのである。

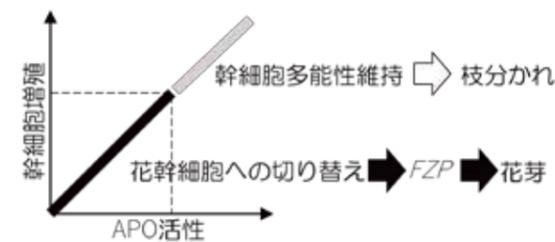
私たちは、イネの花序（穂）を使って、この幹細胞の性質の切替えメカニズムを解析している。イネ花序は枝分かれしている。それぞれの枝では、幹細胞が花幹細胞に切替わるまでは枝分かれが続き、花幹細胞に切替わると花になり、実（コメ）をつける。したがって、花幹細胞に切替わるタイミングが枝分かれの程度を決め、花がつくパターンを決定する。

イネでは、*ABERRANT PANICLE 1 (APO1)* と *APO2* の活性に依存して花序の枝分かれが増える。したがって、*APO1*、*APO2* は幹細胞の多能性を維持し、幹細胞の性質が花幹細胞へと切替わるのを抑制する遺伝子である。また、*APO1/APO2* はメリステム（茎の先端にある分裂組織）における細胞増殖を促進する作用をもつ。これらのことから、幹細胞の増殖性と多能性は関連しており、増殖性が閾値以上ならば多能性が維持され、増殖性が閾値以下になると花幹細胞への切替えが決定されるのではないかと考え、本研究では幹細胞の増殖性と多能性維持のクロストークを解析する。

まず、1細胞トランスクリプトーム解析によりメリステムの細胞群をグルーピングする。さらに、遺伝子発現の位置情報、細胞の微細構造などの情報を総合してイネ茎頂メリステムを構成する各細胞を性格付けし、幹細胞の特定を試みる。*APO2* は *LEAFY* オーソログであるが、下流遺伝子は決定されていないため、本研究で *APO2* の標的遺伝子を明らかにし分子機能を解明する。特に、*APO* と細胞周期制御とのリンクに着目して *APO1/APO2* が幹細胞の増殖を制御する様式を解析し、イネメリステムの幹細胞増殖制御を明らかにする予定である。また、イネの花芽運命決定遺伝子である *FRIZZY PANICLE (FZP)* をマーカーとして、*APO* による細胞増殖制御から花幹細胞への切替えまでの制御を明らかにする。

### コマチゴケプロジェクト

幹細胞は非対称分裂し幹細胞と分化細胞を生み出す。コケ植物では、茎の先端にある1細胞の頂端細胞が幹細胞であり、そこから細胞が規則正しく生みだされ器官に分化する。コマチゴケ (*Haplomitrium mnioides*) では頂端細胞が比較的大きく、露出していることから、幹細胞の研究に適している。そこで本研究では、コマチゴケ頂端細胞の1細胞トランスクリプトーム解析を行い、頂端細胞特異的に機能する遺伝子を単離する。その情報をもとに幹細胞の増殖性や多能性の実態、起源や進化に関する研究を進める。



## 植物幹細胞の多能性を維持するメカニズムの解明

最先端顕微鏡技術を駆使して幹細胞系譜を捉える



研究分担者  
豊岡 公徳

理化学研究所 環境資源科学研究センター 上級研究員

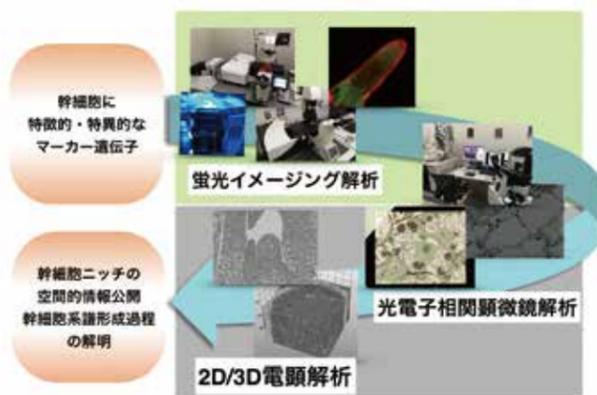
電子顕微鏡（電顕）解析や蛍光イメージング解析は、組織や細胞の超微形態や分子の動態および局在を明らかにする重要な技術である。これまで植物の根端や茎頂のメリステム領域における転写制御因子の機能が分子遺伝学や逆遺伝学的手法により明らかにされてきたが、幹細胞系譜を追うようなイメージング解析や電顕技法を駆使した解析は、ほとんど行われていない。本研究では、次の①～③の技術開発と基礎研究を進める。

①植物幹細胞解析センター（PSAC）のイメージング解析を担当する。1細胞解析や各研究班で見出された幹細胞や幹細胞ニッチの細胞種に特徴的・特異的なマーカー遺伝子に蛍光タンパク質を融合し、最新の超解像共焦点レーザー顕微鏡を用いて2Dおよび3Dライブイメージング解析を行う。光電子相関顕微鏡法により共焦点顕微鏡と同一試料を用いて蛍光が認められる細胞群、細胞およびオルガネラの超微形態を捉え、マーカー遺伝子発現部位と細胞系譜との関連性を明らかにする。これにより、幹細胞ニッチを構成する細胞種の空間的位置関係を解明する。広域電顕撮影法および連続断面走査電顕法により、幹細胞を含むメリステム領域の微細構造画像を取得し3D構築して、細胞系譜と細胞小器官の空間的情報を捉える。さらに、連続切片光電子相関走査電顕法により、トランスクリプトームやプロテオームなど各階層オミクス情報と3D電顕像を相関させた幹細胞系譜の3D電顕像を得る。理研のサーバー上にオミクス情報と3D電顕像を融合させた3D電顕アトラスを構築し、領域終了までに公開を目指す。

②経塚班の分担者として幹細胞の増殖の実態を明らかにする。具体的には、メリステムが小さくなる変異体と野生型イネのメリステムの電顕レベルによる比較解析を行い、メリステム内の細胞の超微形態的特徴を明らかにする。イネ茎頂の1細胞解析またはレーザーマイクロダイセクションにより特定したメリステム特異的な遺伝子および幹細胞関連遺伝子にGFPやRFPなどの蛍光タンパク質遺伝子をつなぎ、蛍光ライブイメージングおよび光電子相関顕微鏡法により幹細胞および幹細胞群を特定し、幹細胞の増殖の機構を超微形態的視点で明らかにする。

③幹細胞ニッチを構成する細胞ニッチの構築を空間的に解明するために、細胞内膜輸送の観点から電顕および蛍光ライブイメージングにより幹細胞の特徴や幹細胞系譜の構築形成過程を明らかにする。具体的には、細胞壁成分や細胞膜成分をゴルジ装置から細胞外への分泌に関与する小胞塊のマーカー Secretory Carrier Membrane Protein 2 (SCAMP2) や液胞膜のプロトンポンプV-H<sup>+</sup>-PPaseなどを指標にメリステムおよび幹細胞における膜系の膜動態を蛍光ライブイメージング解析により明らかにする。加えて、光電子相関顕微鏡法により幹細胞や幹細胞系譜の超微形態や特徴を明らかにする。さらに膜動態を電顕で捉えるため、瞬時に細胞を凍結できる高圧凍結技法の技術開発が重要である。この高圧凍結技法と光電子相関顕微鏡を組み合わせたアプリケーション開発を進め、幹細胞系譜におけるSCAMP2やV-H<sup>+</sup>-PPaseの局在および動態解析をより詳細に行う。

PSACの活動の一環として毎年イメージング技術講習会を開催する予定である。また、計画・公募研究の研究者らと、各試料・組織に適した電顕および蛍光イメージング用試料調製法や観察法を共同開発する。



## 植物幹細胞の一過性と永続性を制御する分子メカニズムの解明

気孔系譜幹細胞の維持と分化を規定する分子メカニズムの解明



研究代表者  
鳥居 啓子

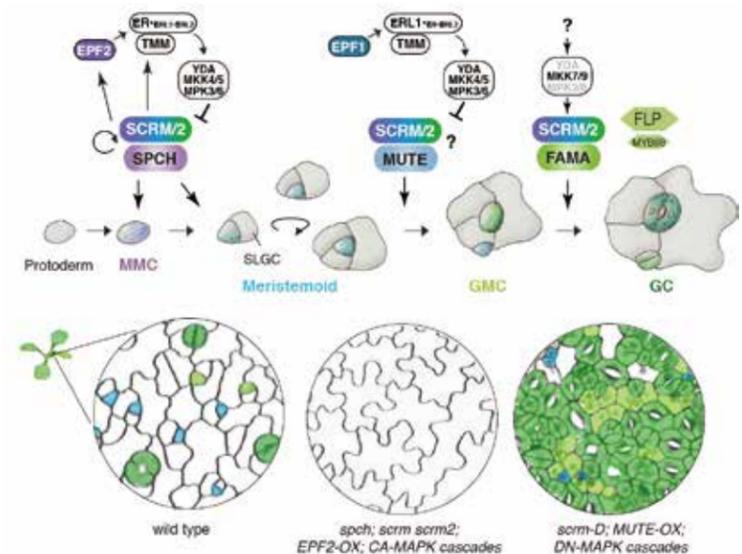
名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所 客員教授

植物の柔軟な成長生存戦略を支えているのは、茎頂分裂組織や維管束分裂組織など永続性を持つ幹細胞ですが、植物は、同時に、一過的で限られた多能性を有する幹細胞も生み出します。一過性の幹細胞の例として、陸上植物の葉など光合成器官の表皮に散在し、ガス交換や蒸散を制御する気孔の幹細胞（メリステモイド細胞）が存在します。陸上植物は、環境に応じて気孔の数や分布を調節することにより、ガス交換と水分調節（成長と生存）のバランスを取っています。気孔の存在は、植物の成長と生存さらには地球環境レベルでインパクトを与えていることから、メリステモイド細胞の誕生、維持と終焉（分化）の仕組みの理解は急務であると言えます。

私たちのグループは、気孔の発生とパターン形成の仕組みを世界にさがけて発見してきました。気孔がきちんと開閉し機能するためには、気孔同士が隣接せずに離れて形成される必要があります。このメカニズムを担う一群の受容体（ERECTAファミリー受容体キナーゼ）は、EPIDERMAL PATTERNING FACTORS (EPFs)と名付けられた分泌性のペプチドホルモンを認識結合し、細胞内シグナル伝達経路を介し、気孔系譜の発生を抑制しています。EPFペプチドは複数存在します。私たちは、さらに、気孔系譜の発生を抑制するEPF2

ペプチドと気孔の分化を促進するストマジエンペプチドは、ERECTAファミリー受容体キナーゼに競合的に結合することによって、適切な気孔の数と分布を調節していることを示しました。

未分化な表皮細胞から気孔を構築する一対の孔辺細胞までの分化のステップは、マスター指令転写因子であるSPEECHLESS, MUTE, FAMAによって順次制御されています。SPEECHLESSとMUTEは、それぞれ、類似した姉妹転写因子ですが、前者はメリステモイド細胞の誕生と維持、後者は終焉と分化を制御しています。2つの姉妹転写因子が、どのようにして逆の機能を持っているのか、そのメカニズムを通して植物の一過性幹細胞の本質に迫ろう、というのが本新学術研究の目的です。特に、MUTEがどのようにしてメリステモイド細胞の非対称分裂（幹細胞に特徴的な分裂）を停止させ、その一方で一対の孔辺細胞をつくるためのたった1回の対称分裂を起こすのか、MUTEの直接下流遺伝子の制御ネットワークを明らかにすることにより迫っていこうと思います。さらには、一過性の幹細胞が終焉する過程で起こるクロマチンレベルの制御を解き明かしていく予定です。



## 植物幹細胞の一過性と永続性を制御する分子メカニズムの解明

維管束幹細胞の永続性を支える分子メカニズムの解明



研究分担者

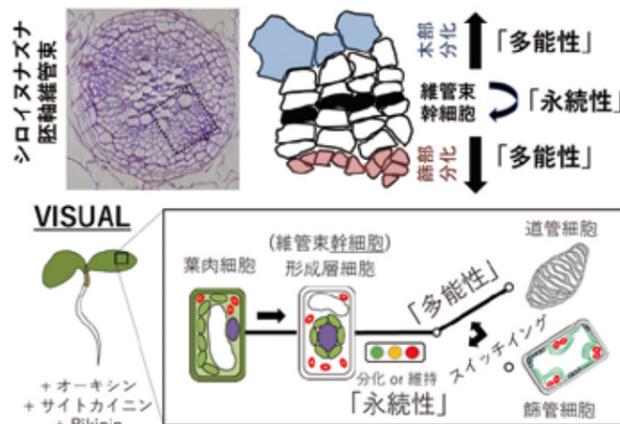
近藤 侑貴

東京大学大学院理学研究科 助教

主に樹木などにみられるように、植物は生涯を通して肥大成長をおこないます。これは、形成層に存在する維管束幹細胞が永続的に維管束細胞を作り出すことによって実現します。維管束幹細胞は、道管・篩管細胞という異なる維管束細胞を作り出すとともに、永続的に自分自身を維持し続けなければなりません。しかしながら、このような維管束幹細胞の「多能性」と「永続性」を研究するにあたり、維管束は植物体の奥深くに埋め込まれているため、細胞運命を時間をおいて調べるのは非常に困難でした。そこで、私たちは維管束細胞分化をシンプルに捉えることのできる分化誘導システム“VISUAL”を新たに開発しました。このVISUALにおいては、シロイヌナズナ子葉を植物ホルモンを含む培地中で培養することで、わずか4日のうちに道管・篩管の両方の細胞を同時に作り出すことができます。12時間おきサンプリングによる大規模遺伝子発現解析の結果から、この分化過程においては、まず光合成をおこなう葉肉細胞から脱分化を経て維管束幹細胞がつかられ、その後、道管・篩管の細胞へと分化することがわかってきました。では、維管束幹細胞はどのように道管・篩管細胞を作り分けるのでしょうか？つい最近、私たちは維管束幹細胞の分化方向を変化させる重要因子を発見し、篩管細胞のみを優先的に作り出すことのできる“VISUAL-PH (phloem)”の確立に成功しました。これら二つの培養系の比較により、維管束幹細胞の「多能性」についての理解が大きく深まると期待されます。

興味深いことに、幹細胞の運命が柔軟でゆらいでいる様子も少しずつ見えてきており、こういった幹細胞集団の不均質性を1細胞レベルで解析していきます。

また一方で、私たちは遺伝学的アプローチからも研究を進めており、維管束幹細胞分化のON/OFFを規定する鍵因子としてBES1転写因子ファミリーを単離しました。bes1変異体を用いてVISUALをおこなうと、道管・篩管分化が抑えられ、維管束幹細胞の状態で留まることがわかりました。更なる遺伝学的解析から、BES1ファミリーの中には分化を促進するものだけでなく、逆に抑制するものもあることもわかってきました。これらの結果は、幹細胞分化に対する青信号と赤信号が存在することで、維管束幹細胞が適切に維持されている可能性を示唆しています。そこで私たちは、BES1の下流でどのように幹細胞分化が制御されるのかを明らかにするため、順遺伝学的解析をおこない、bes1変異体の表現型を回復する変異体をいくつか単離しました。今後、原因遺伝子の機能解析を進めることで、維管束幹細胞の「永続性」を制御する分子機構にせまっていきます。またBES1ファミリー遺伝子は、維管束発生だけでなく様々な発生過程においても機能することから、VISUALで得られたコンセプトを拡張していくことで、幹細胞制御システムの普遍性についても研究を展開していきます。



## 多能性幹細胞の維持・再生機構の解明

植物幹細胞の数とゲノム恒常性を維持する制御系の理解



研究代表者

梅田 正明

奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科 教授

植物にとって幹細胞を一定数維持し続けることは、永続的な生命力を実現する上で非常に重要である。しかし、幹細胞の不等分裂を厳密に制御し、幹細胞数を一定に保つ仕組みは未だ謎である。シロイヌナズナの根端では、静止中心(QC)のすぐ下に常に一層の科尔メラ幹細胞が維持される。この幹細胞が不等分裂を行うと新たな幹細胞と分化した科尔メラ細胞(分裂能はもたない)が生まれるので、科尔メラ幹細胞の不等分裂の仕組みを知ることは、幹細胞を一定数維持する制御系の理解につながる。我々は、シロイヌナズナに7つ存在するサイクリン依存性キナーゼ阻害因子KRPのうち、ある種のを欠損させると、科尔メラ幹細胞の数が増えることを見出した。これらのKRPは幹細胞の不等分裂後に偏った発現様式を示すことから、KRPの発現制御が不等性を生み出す上で重要な鍵を握っていると考えられる。そこで、本研究では幹細胞分裂の際のKRPの発現制御の仕組みを明らかにし、幹細胞を一定数維持するメカニズムを理解する。

幹細胞を維持する上で、そのゲノムを恒常的に保つことも非常に重要である。動植物を問わず、細胞の中では常にゲノム複製に伴うDNA損傷が起きているが、植物は可動性をもたないため、さらに環境ストレスによるDNA損傷も頻繁に生じる。これまでの研究から、シ

ロイヌナズナの根端にDNA損傷を与えると幹細胞が積極的に細胞死を起こす一方、それに接するQC細胞が分裂を活性化させることがわかってきた。これにより新たな幹細胞を作り出し、再生するのである(図1)。QC細胞ではDNA修復系が活性化されているので、おそらくこのメカニズムは幹細胞をQCから再生することにより、幹細胞ゲノムの恒常性を維持するのに役立っていると考えられる。我々は、幹細胞死にはオーキシンシグナルの低下が、またQC細胞の分裂活性化にはブラシノステロイドシグナルの活性化が必要であることを見出している(図1)。オーキシンはクロマチン構造の制御に関与していることも見出していることから、本研究では、クロマチン構造を制御するエピジェネティック修飾の観点から幹細胞死の誘導機構を探っていく。また、幹細胞死とQC細胞の分裂活性化がどのように協調的に制御されているかも、幹細胞の維持機構を理解する上で重要な課題である。この点に関しては、細胞タイプ特異的な発現制御系とライブイメージングを駆使して解析を行っていく。幹細胞特異的な細胞死は茎頂分裂組織でも観察されるので、本研究で明らかになる制御系は植物幹細胞に共通するゲノム恒常性維持機構であると考えている。

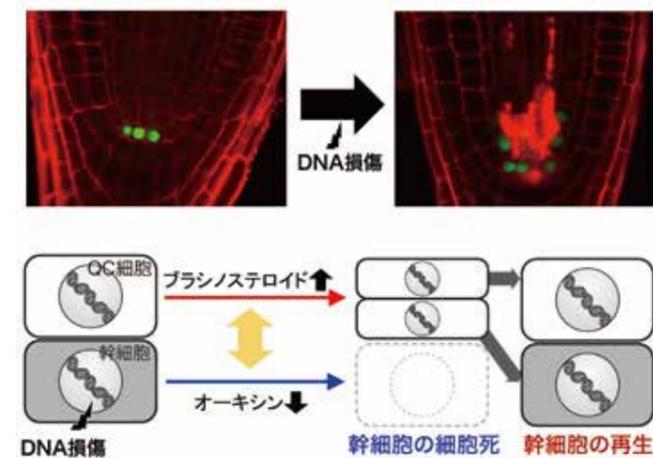


図1 DNA損傷に反応した幹細胞の細胞死とQC細胞の分裂活性化 (上) DNA損傷を与えると幹細胞特異的に細胞死が誘導され、死細胞がPI染色により赤く染まる。緑色はQC細胞マーカーであるpWOX5::GFPの発現を示す。(下) オーキシンとブラシノステロイドを介した幹細胞再生のモデル図。

## 多能性幹細胞の維持・再生機構の解明

動物の多能性幹細胞維持のメカニズム



研究分担者  
**坪内 知美**  
基礎生物学研究所 准教授

動物の個体発生初期には、体を構成する様々な細胞種に分化する能力(多能性)を持つユニークな細胞群が一過的に出現する。この時期から樹立された胚性幹(ES)細胞は、染色体構造や細胞周期制御など、幾つもの点で他の細胞と異なっており、多能性の維持と密接な関係があると考えられる。一方で、染色体構造や細胞周期制御は遺伝情報の維持機構に中心的役割を担う。私たちは、ES細胞の染色体構造・細胞周期制御・ゲノム恒常性維持機構の連携を紐解くことで、動物多能性幹細胞の遺伝情報が正確に継承されるメカニズムの解明を目指す。

### 多能性細胞の自己複製

多能性細胞は、他の細胞種と異なり、DNA複製期と分裂期を殆ど休みなく短い周期で自己複製している。また、この過程で、他の細胞種とは異なる戦略でゲノム恒常性を維持していることが明らかになりつつある。私たちの研究室では、マウスES細胞をモデルに、このような多能性細胞特異的な自己複製機構とその生物学的意義を明らかにすることを目指している。特に、以前は困難だったES細胞の細胞周期同調法を確立し(Tsubouchi et al., *Cell* 2013)、特異的な細胞周期ステージに着目した解析を可能にした。

### ES細胞とDNA複製

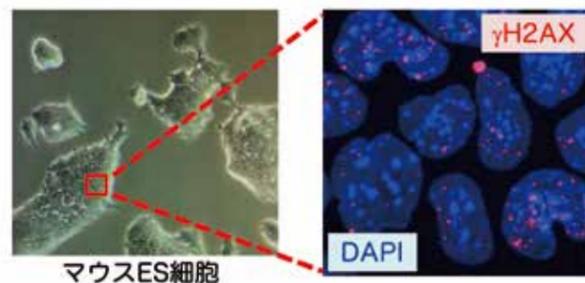
我々の細胞は、絶えず外的、内的DNA損傷要因にさらされている。特に、自己複製に必須なDNA複製の過程ではゲノムが不安定化しやすく、DNA複製が阻害されると、1本鎖DNAの露出や二重鎖切断を引き起こす。細胞には、通常、これらの損傷を保護・修復し、DNA複製を再開する機構が備わっている。

しかし、ES細胞ではDNA複製が阻害されると、簡単に細胞死が引き起こされる。このことから私たちは、1. ES細胞のDNA複製は不安定なのではないか、2. ES細胞は生じた損傷を修復しない(できない)のではないかと、という二つの可能性を検討し、

DNA複製期を詳細に解析している。実際に、複製中のES細胞の核内には多数のDNA損傷マーカー ( $\gamma$ H2AX)の局在が観察される(図)。このようなDNA損傷シグナリングは何に起因し、多能性やゲノム恒常性を維持していく上でどのような役割を担っているのか、明らかにしていきたい。

### 多能性誘導過程におけるDNA複製

ES細胞に線維芽細胞やリンパ細胞などの分化した細胞を融合させると、非ES細胞の核内に多能性が誘導されることが知られている。私たちは、この系を使って、ヒトBリンパ細胞に多能性が誘導される過程を調べてきた(Tsubouchi et al., *Cell* 2013)。この中で、多能性誘導の鍵を握る核内制御が、DNA複製と密接な関係を持つことがわかった。多能性誘導の結果得られるiPS細胞では、DNA複製過程に生じたと思われるゲノム上の傷が見つかった。したがって、多能性誘導過程は、DNA損傷と生存のバランスの上に成り立っていると考えられる。私たちは、細胞融合の系を使って、多能性誘導過程におけるDNA複製の安定性とゲノム恒常性を調べている。このことで多能性細胞特異的な自己複製機構をよりよく理解すると共に効率の良い多能性誘導と、より安全な再生医療への応用にも貢献できると考えている。



## 多能性幹細胞の維持・再生機構の解明

1細胞トランスクリプトームとエピゲノム解析から解明する多能性幹細胞維持のメカニズム



研究分担者  
**荻田 亜希子**  
理化学研究所ライフサイエンス技術基盤研究センター ユニットリーダー

クロマチン研究をやっています。ポスドク(バークレー・カリフォルニア)のプロジェクトではmodENCODEというENCODEの姉妹プロジェクトに携わっていました。ショウジョウバエのモデルでヒストン修飾やクロマチンたんぱく質のChIP-chip/seqを行い、シーケンスの解析も共同研究を通してやりました。

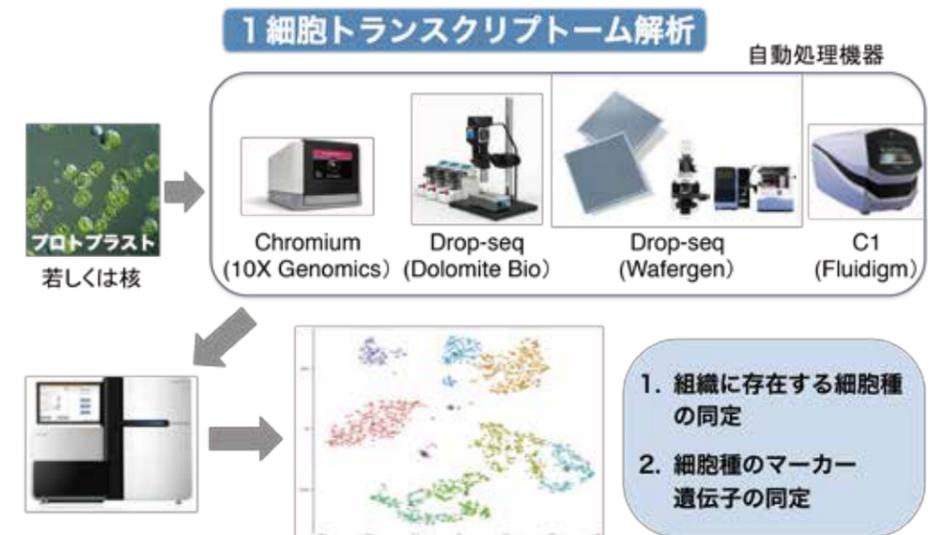
5年前理研に就任してからはエピゲノム技術開発やヒト疾患モデルのクロマチン構造を研究しています。主な技術としてはATAC-seq(オープンクロマチン情報)、ChIP-seq、CAGE(5' RNA-seq)を使い解析しています。最近1細胞トランスクリプトーム解析も始め、とてもパワフルだと実感しています。1細胞トランスクリプトームは主にマウスの組織を用いていますが、どのような細胞種が存在するかの同定も非常に便利です。

梅田班ではエピゲノム解析を行う予定です。主にATAC-seqですが必要であればChIP-seqも行います。

PSAC (Plant Single cell Analysis Center) の1細胞解析施設ではメリステム全体の1細胞トランスクリプトーム解析を行います。シーケンスデータをクラスタリングすることで、幹細胞を含むメリステム全体の細胞種構築を同定します。特に、幹細胞群に複数のサブポピュレーションが存在するかどうかを検討し、それぞれのマーカー遺伝子を同定します。幹細胞マーカー及び幹細胞以外のマーカーを同時にイメージすることで(豊岡グループ) ニッチ細胞の同定も試みます。

具体的には組織の細胞集団から単一プロトプラスト、あるいは単一核の単離、溶解、mRNAのバーコーディングを自動で行う機器を使用しますが、植物細胞ではまだ前例が無いことから複数の機器を検討します。

1細胞エピゲノム解析も可能にしたいと考えています。1細胞ATAC-seqは発表されている方法を確立し、1細胞ChIP-seqはまだ技術開発の余地があるのでも試みます。



## 長寿命樹木にみられる 幹細胞ゲノムの多様性分析

長生きを可能にする仕組み



研究代表者

佐竹 暁子

九州大学大学院理学研究院  
准教授



研究分担者

陶山 佳久

東北大学大学院農学研究所  
准教授

植物には、何百年・何千年と生き続ける長寿命のものがある。このような長寿命植物では無限に分裂可能な幹細胞が数多く存在するとともに、ゲノムの体細胞間変異が無視できないほど蓄積されていることがこれまで報告されてきた(図1a)。この変異は、新しく形成された組織へ引き継がれながら個体内で長く維持されており、最終的に次世代へ伝達可能である。このゲノム体細胞間変異を、動けない植物が多様な次世代を創出する戦略としてとらえ、実証することが本研究のねらいである。本研究では、近縁でありながら寿命が約2倍異なるシラカンバとダケカンバや、体積世界一の樹木として知られるジャイアントセコイア、東南アジア熱帯林に優占するフタバガキなど多様な植物を対象に、樹形構造の分析、異なる枝組織毎にゲノムDNA配列情報の取得、枝間の遺伝的距離と物理的距離の相関分析を進めることによって、同一個体内に存在するゲノムの体細胞間変異を詳細に定量化し、樹形の発達に伴った変異の蓄積パターンを明らかにする。

平成29年度は、主に寿命が約2倍異なるシラカンバ (*Betula platyphylla*) とダケカンバ (*B. ermanii*) を対象にした分析と、数学モデルの構築および解析を行った。種あたり新規に3個体を伐採し、各枝の長さや年輪情報より年齢を推定したところ、シラカンバは平均樹齢70年、ダケカンバは平均樹齢170年であったため、種間比較に絶好のサンプルを準備することができた(図1b)。実証データで今後示される変異の蓄積パターンを説明するために、突然変異率、枝分岐までに必要な細胞分裂数、芽を形成する幹細胞集団サイズをパラメータとした数学モデルを構築し、枝分岐後の経過時間に依存した突然変異数の推移を予測した。得られる実証データと理論予測を照らし合わせることによって、今後は個体内体細胞突然変異の蓄積の背後に存在する規則性と生物の長寿命性の意義を見出す。

長寿命生物における体細胞突然変異の蓄積は古くから注目されてきた現象であるが、近年はゲノム情報を容易に取得可能になったことから本現象を実証的により定量的に分析できる時代となった。近年の研究によって、長寿命植物では細胞分裂数を低く抑えることにより変異の蓄積を最小化していることが指摘されてきたが(Schmid-Siebert et al. 2017)、本研究課題では細胞分裂数

外にも、芽を形成する幹細胞集団サイズや枝分岐の構造などの要因も変異の蓄積過程に大きな影響を及ぼすことを示す。また、幹細胞由来のモジュール構造の発達が寿命にどのような影響を与えるかを、異なる枝間で資源のやりとりをシミュレートする資源輸送モデル(Ohara & Satake 2017)を活用することで明らかにしたい。

### 参考文献

Schmid-Siebert, E. et al. 2017. Low Number of Fixed Somatic Mutations in a Long-Lived Oak Tree. *Nature Plants* 3: 926–29.

Ohara, T. & Satake, A. (2017) Photosynthetic Entrainment of the Circadian Clock Facilitates Plant Growth under Environmental Fluctuations: Perspectives from an Integrated Model of Phase Oscillator and Phloem Transportation. *Frontiers in Plant Science* 8: 1859.



図1: a) 異なる枝で変異が蓄積されていく過程。丸はそれぞれ頂芽を示す。  
b) 対象としたダケカンバの伐採の様子。北海道大学雨龍研究林にて。

## 2017年度アウトリーチ活動

outreach activity

| 日付              | 活動名                         | 対象     | 概要  | 場所                       | 活動者           |
|-----------------|-----------------------------|--------|---|--------------------------|---------------|
| 7月13日           | 滝川第二中学校での模擬授業               | 中学生    | 大学生生活や研究活動の紹介と、「陸上植物のなりたちと進化」と題した模擬授業を行った                                 | 瀧川学園 滝川第二中学校 (神戸市)       | 石崎 公庸         |
| 8月9日            | 名古屋大学オープンキャンパスでの研究紹介        | 高校生    | 様々な植物ホルモンの役割と最近の研究成果について、ポスターと植物観察などを交えて説明した                              | 名古屋大学 生命農学研究所            | 榊原 均          |
| 8月9日            | 名古屋大学オープンキャンパスでの研究紹介        | 高校生    | イネの節間伸長や収量性に関する遺伝子機能の紹介と、有用農業形質遺伝子による育種について説明した                           | 名古屋大学 生物機能開発利用研究センター     | 芦苺 基行         |
| 8月10日           | 名古屋大学オープンキャンパスでの進路相談        | 高校生    | オープンキャンパス企画の、高校生に対する進路相談コーナーに相談役として参加した                                   | 名古屋大学 理学研究科              | 五島 剛太         |
| 8月23日～25日       | 基礎生物学研究所 大学生のための夏の実習・大学院説明会 | 大学 学部生 | 研究内容の概説・研究室見学を実施。特に興味を持つ学部生に対して3日間の実習を行った。今年はフランスからの参加者を含め4名を受け入れた        | 基礎生物学研究所                 | 坪内 知美         |
| 9月1日～14日        | 学部生長期インターンシップ               | 大学 学部生 | 同志社大学理工学部の3年生1名が2週間梅田研に滞在し、実験と研究発表を行った                                    | 奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科 | 梅田 正明         |
| 9月23日           | 理化学研究所 一般公開 2017            | 一般     | 植物や昆虫、微生物など生物のミクロの世界を、横浜フロンティア高校の高校生ボランティアと共に子供から大人までが様々な顕微鏡を使って観察した      | 理化学研究所 横浜キャンパス           | 豊岡 公德         |
| 9月23日           | 理化学研究所 一般公開 2017            | 一般     | モデル植物に関わる展示と、モデル植物を使ったキーホルダー作製により、植物についての理解を深めた                           | 理化学研究所 横浜キャンパス           | 木羽 隆敏<br>榊原 均 |
| 10月10日          | 科学雑誌ニュートン別冊：「細胞と生命」協力       | 一般     | 科学雑誌ニュートン別冊：「細胞と生命」の中の「染色体の分配」の章に協力した                                     |                          | 五島 剛太         |
| 10月28日          | 国立遺伝学研究所 公開講演会 2017         | 一般     | 国立遺伝学研究所が主催する公開講演会において、「植物の形作りと作物育種」というタイトルで一般向けの講演を行なった。                 | 一橋講堂 学術総合センター            | 佐藤 豊          |
| 11月26日<br>12月3日 | ラジオ番組出演                     | 一般     | 三島函南エリアのFMラジオ局ボイスキューの番組サイエンスNOWにおいて、パーソナリティーと科学研究の面白さを話し合った様子が一般向けに放送された。 | FMラジオ局 ボイスキュー 収録室        | 佐藤 豊          |
| 12月1日           | 岡崎市立竜海中学校での出前授業             | 中学生    | 中学2年生に対して「細胞を操る仕組み」と題した授業を行なった。   | 愛知県岡崎市岡崎市立竜海中学校          | 坪内 知美         |
| 12月19日          | 高校生 研究所見学対応                 | 高校生    | 品川女子学院の高校1年生の研究所見学に対応し、上田が座談会に参加した  | 理化学研究所 横浜キャンパス           | 榊原 均<br>上田 七重 |



理化学研究所一般公開2017



岡崎市立竜海中学校での出前授業

新学術領域研究

「植物の生命力を支える多能性幹細胞の基盤原理」

第一回総括班会議

本新学術領域発足に伴い、最初の総括班会議を平成29年7月24-25日に理化学研究所横浜キャンパスにおいて開催した。初日に計画研究代表者ならびに分担者がそれぞれ担当する研究テーマの紹介を行った。二日目は、領域運営方針の確認ならびに役割分担、また、PSACの紹介と利用の推進について話し合った。



文部科学省 科学研究費補助金 平成29年度新学術領域研究  
「植物の生命力を支える多能性幹細胞の基盤原理」(略称: 植物多能性幹細胞) キックオフミーティング

平成29年9月13日、東京大学本郷キャンパス・小柴ホールにて本新学術領域研究のキックオフミーティングを開催しました。はじめに、梅田領域代表から本領域「植物多能性幹細胞」の背景・概要が説明され、続いて各計画研究班の研究内容紹介そして支援班によるPSACの説明がおこなわれました。引き続き、平成30-31年度の公募研究の募集案内が行われました。当日は122名の方々にご参加頂き、盛況のうちに本会を終了することが出来ました。ミーティング後、ホワイエで開かれたミキサーでも70名を超える参加者の方々が集まり、飲み物を片手に「植物幹細胞研究」に関するディスカッションで盛り上がりました。



第一回「植物多能性幹細胞」若手の会

領域で初めての合宿形式の集会となった第1回 若手の会が、2017年11月27日から29日にかけて神奈川県三浦半島、三浦海岸近くのマホロバ・マインズにて開催されました。総勢38名が参加し、交流を深めました。会には計画領域班の大学院生・研究員・助教ほか、研究室に配属されて間もない学部生らが参加し、全員が自己紹介も含め各自の研究発表を行いました。学生やポストドクから活発な質疑応答が行われ、さらに予想以上に学生がしっかりと研究発表を行ったため、予定時間を大幅に超過するほどでした。夜の意見交換会では、梅田領域長を含めPIの方々から領域を立ち上げた経緯や苦労話をお聞きし、中堅の研究員、助教らと今後の若手の会について意見を出し合いました。懇親会を含めこれからの計画領域班連携に必要な関係を築けた有意義な3日間となりました。



第三回幹細胞研究会

幹細胞研究会は植物と動物の研究者が一堂に会して、幹細胞について議論する機会を設けています。2015年の第1回目は基礎生物学研究所、2016年の第2回目は神戸大学、第3回目の今回は2017年11月29日に理化学研究所横浜キャンパスにて開催しました。理研CLSTの蓑田と理研CSRSの林がホストを務めました。植物側は下遠野(東大)、藤田(北大)、五島(名大)、長谷部(基生研)の4名、動物側は藤原(理研)、佐田(筑波大)、松崎(理研)、竹内(鳥取大)の4名の研究者にご講演を依頼し、総勢51名の参加者がありました。活発な質疑応答により、植物はもちろんのこと、動物の研究者にも有意義な研究会であったとのこと感想をいただきました。ご参加いただいた皆様には感謝申し上げます。引き続きよろしくお願ひ申し上げます。

グループミーティング

本新学術領域研究では、領域内での研究交流、また、共同研究を活発にすることを目的に、グループミーティングを行なっています。グループミーティングでは、領域内の少数のグループで若手を交えて研究討論を行うものです。2017年度は12件のグループミーティングが行なわれました。写真は、国立遺伝学研究所において、鳥居(連携研究者の打田)グループ-近藤グループ-佐藤グループによるグループミーティングの様子です。今後も積極的にグループミーティングを開催し、新たな共同研究の芽が出てくることを期待します。



overseas dispatch report

新学術領域研究国際活動支援による海外派遣滞在記

大原隆之(佐竹 陶山グループ)  
北海道大学大学院環境科学院 九州大学理学部

私は、2017年11月1日から11月31日まで英国のCambridge大学のAlex Webb教授の研究室に滞在した。Webb教授の研究室は、「Circadian Signal Transduction」というテーマで研究を行っており、カルシウムやショ糖、NADなど植物自身が生体内で生産する物質が、どのように概日時計を調節しているのか、そのシグナル経路の解明を主なプロジェクトとしている。

私は、博士論文のテーマとして、概日時計と代謝の相互作用、特に光合成産物による概日時計の調節が炭素代謝や成長に及ぼす影響を、数理モデルを用いて研究してきた。Webb教授のグループとはこの研究の開始から共同研究を行っている。我々のこれまでの研究から、概日時計が炭素代謝、特にデンプン分解の速度を調節し、一方で概日時計自体はショ糖動態に由来するシグナルによってその位相(内的な時間)が調節される、というフィードバック構造が、シンク組織の成長への炭素資源供給を安定化し、成長の促進に繋がるといことがわかってきた。このことから、上述のフィードバック制御が植物の適応度上昇に貢献していることが示唆される。しかしながら、そのフィードバック構造の分子的基盤、例えば植物概日時計を構成する時計遺伝子がショ糖シグナルを感

受しているのか、についてはほとんどわかっていない。現在私は、植物概日時計を構成する時計遺伝子の制御ネットワークを常微分方程式で記述した数理モデルを用いて、この謎の解明に取り組んでいる。今回の滞在では、Webb教授とポストドクのTimothy Hearn博士と共に、数値シミュレーションによって得られた結果の解釈や、モデル予測と彼らが計測してきた実験データとの比較などに関して、議論を集中的に行った。これらの研究に関しては、現在論文を投稿準備中である。

英国滞在中には、Webb教授の研究室だけではなく、概日時計を研究している国内の他の研究室にも訪問をした。具体的には、MRC Laboratory of Molecular BiologyのJohn O'Neil教授、Bristol大学のAntony Dodd教授及びEssex大学のMatt Jones博士の研究室への訪問を行い、セミナーを行わせて頂いた。私が普段活動している研究室は、主に生態学や動物行動学などのマクロ生物学を研究している研究者・学生が多く、普段のセミナーでの議論もマクロな視点からのものが多い。一方で、Webb教授の研究室及び上記の研究室は、概日時計を分子生物学的手法で研究しているため、セミナーでの質問・議論もミクロな視点からのものがほとんどであった。普段とは少し異なる観点からの

議論は、あまり慣れていないことから大変でもあったが、非常に刺激的でもあった。

今回の滞在で初めての経験だったのはTea timeである。Webb教授の研究室がある建物には少し大きめのTea roomがあり、毎日10時過ぎと15時過ぎには他の研究室の研究者・学生も含めてそこに集まり、30分程度コーヒーなどを飲みながら雑談などをする時間が設けられている。その他にも、金曜日の夜には(毎週ではないようだが)Beer hourというのがある。Tea roomにビールサーバーやおつまみなどが持ち込まれ、お酒を飲みながらコミュニケーションを図る時間が設けられていた。同僚に話を聞いてみると、そのようなSocial eventの時間は非常に重要視しているということであった。

今回の滞在は1ヶ月という短いものだったが、研究面での進展があり、また海外の研究者とのコネクションの形成、さらには日本以外の国における研究のアプローチなどを知ることが出来て、非常に有意義なものであった。最後になりましたが、今回の滞在は、新学術領域研究「植物の生命力を支える多能性幹細胞の基盤原理」の国際活動の一環として国際共同研究加速基金のサポートを受けて行われました。この場を借りてお礼を申し上げます。

## 2017～2018年度の予定

---

|        |        |  |
|--------|--------|--|
| 2017年度 | 3月3～4日 | 第1回領域会議（於 ホテルコスモスクエア国際交流センター：担当 梅田）                                |
|        | 3月29日  | 第59回日本植物生理学会年会シンポジウム<br>「植物と動物における幹細胞性の維持と分化運命決定」（於 札幌コンベンションセンター） |

---

|        |          |                           |
|--------|----------|---------------------------|
| 2018年度 | 5月20～22日 | 第2回領域会議（於 ラフォーレ修善寺：担当 佐藤） |
|        | 8月下旬（予定） | イメージング技術講習会（於 理研横浜キャンパス）  |
|        |          | 第2回若手の会（開催場所・時期未定）        |
|        |          | 第4回幹細胞研究会（開催場所・時期未定）      |
|        | 3月（予定）   | 第3回領域会議（名古屋地区で開催予定）       |

---

**イメージング技術講習会のご案内** 2018年8月下旬に理研横浜キャンパス（横浜市鶴見区）にて2日間のイメージング技術講習会を行います。今回は、蛍光イメージング技術を中心に、蛍光観察法の基本と共焦点レーザー顕微鏡(Leica SP8 X等)による蛍光タンパク質を用いた蛍光ライブイメージング、蛍光免疫染色法、透明化法など応用について講義、実習を予定しています。参加は、領域内の院生・ポスドク・教員に限らせて頂きます。

---



梅田代表の新学術領域研究がスタートして半年が経ちました。苦労の末に勝ち取った採択の知らせの興奮が、植物幹細胞という新しい学問領域をどのように発展させられるのか期待と責任へとこの半年間で徐々に気持ちが増えてきたように感じ身の引き締まる思いです。2018年度からは公募研究も加わり、領域の研究はさらに厚みを増します。新しい共同研究等や研究展開の成果も、いずれこのニュースレターで報告できると思います。期待しててください。さて、先日の新聞記事で知ったのですが、子供のなりたい職業ランキングで学者が男子児童のトップになったそうです。ノーベル賞効果との分析もあるようですが、基礎科学を支える研究が若い世代にとって魅力的に映るよう、我々現役研究者にもできる工夫がありそうです。

このニュースレターの表紙ですが、故森島啓子国立遺伝学研究所名誉教授が描かれた寒椿です。大輪の花と共に冬芽も精細に描かれています。絵には花芽と葉芽の両方の冬芽が描かれています。栄養成長と生殖成長のシュートが同時に作られることがあるのか不思議に思い、構内の椿を探したところ、確かに花芽と葉芽が同じ枝にできていました。花芽も葉芽も幹細胞から作られるのですが、どのようにこれらが作り分けられているのでしょうか。植物幹細胞にまつわる身近な疑問はまだまだ沢山ありそうです。(YS)