

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

02

2019

March



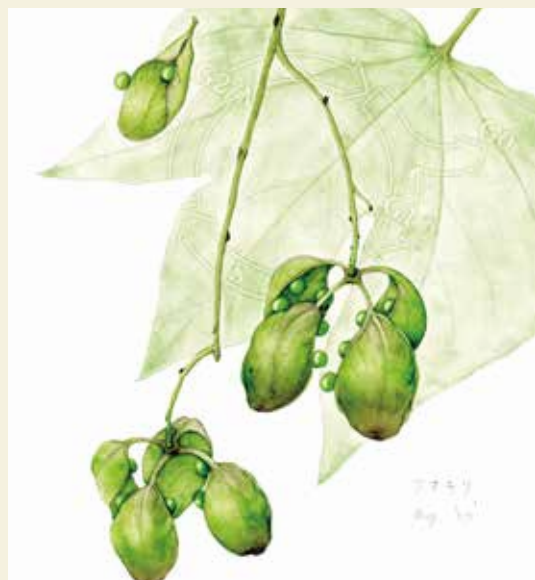
アオギリ
Aug. '07

MORISHIMA, Hiroko

PSC

NEWS LETTER Plant Stem Cells

2019 March 02



Contents

●巻頭言	01
●計画研究の紹介	
A01: 幹細胞増殖	03
A02: 幹細胞性維持	11
●PSCフロントライン	21
●2018年度アウトリーチ活動	28
●2017年度活動報告	29
●ウッズホールMBL (Marine Biological Laboratory) での夏の共同研究	30
●国際シンポジウムのお知らせ・表彰	32
●編集後記	裏表紙

Foreword 巻頭言

カール・ベームというオーストリアの指揮者がいました (Karl Böhm, 1894年～1981年)。ウィーン国立歌劇場の総監督も務めた非常に有名な指揮者ですが、カラヤンとは対照的に指揮ぶりは地味で、身振りは小さく、控えめな人でした。しかし、そこから紡ぎ出される音楽は深淵かつ新鮮で、私は子供の頃、父親に買ってもらったレコードを繰り返し聞いた覚えがあります。もちろん当時は音楽をわかって聞いていたわけではありませんが、今でも好きな指揮者の一人なので、感覚的に合っていたのは確かだと思います。ベーム氏は何度か来日していますが、何度目かの来日の際のインタビューで、「日本人は畏敬の念をもって」と語りました。畏敬の「畏」は「おそれる」、「敬」は「うやまう」つまり、日本人は自然や神仏に対して畏れ敬う心もち続けている、と驚きをもって語ったのです。奈良に住んでいると神仏習合の場面に会うことが少なくありませんが、これも日本人が畏敬の念を心の底流にもち続けてきたことを示しています。それでは、ベーム氏が亡くなってから40年近く経った現在の日本人はどうなのでしょうか？

私がいる奈良先端大は大学院大学なので、インターンシップで大学生が来たり、高校生がラボステイしたりして、数日から数週間にわたり研究室で実験することがあります。その時に彼らを捕まえて話すのですが、高校生はなんと頭が柔らかいこと！逆に学部3,4年生は頭が固くなっているなあ・・とよく感じます。大学生の場合はマスコミやインターネットなどから入ってくる情報量が多すぎるというのも原因の一つだと思いますが、それにも増して危機感を感じるの、実験してオモシロイと感じたり、スゴイと感激したりする感覚が麻痺しかけているという点です。高校生にはまだその感覚があるので、話していて新鮮に感じます。少なくとも自分が大学生や大学院生の時はもっとワクワク感があったように思いますが、何が変わってきたのでしょうか？

現代の日本人は畏敬の念を失いつつあるのかもしれませんが。オモシロイとかスゴイと感じる心は、特に生命現象が対象の場合は、自然を「畏れ敬う」気持ちがどこかにないともてない感覚だと思います。研究分野によっては、日本人が畏敬の念をもち続けてきたからこそ独特な感覚をもって現象を捉え、発展してきたケースもあるでしょう。日本の生命科学分野では博士課程に進学する学生が激減しましたが、これは学生の問題だけでなく、日本人全体が畏敬の念を失いつつあり、そのせいで生命に対する探究心が薄れてきた結果とも言えます。もちろん就職事情も一つの要因であることは確かですが、たとえ就職環境が整っても、日本人全体の生命科学に対する関心が高まらないと基礎科学に対する理解は深まらず、結局解決し得ない問題だと思っています。そう考えると、我々のような研究者が哲学や文学、歴史、芸術といった分野にも通じ、生命科学の本質を伝え、日本人の意識を変えることが非常に重要な気がします。ここに書いたことは日本だけでなく、世界的にも言えるかもしれません。近代初期は、科学と哲学の境界が非常に曖昧だったことはよく知られています。

大そうなることを書くつもりはなかったのですが、話が広がってしまいました。私が言いたかったのは、ベーム氏が50年前に語った「畏敬の念」は、我々のような生命科学者にとって特に大切であり、これからももち続け、発信しなければいけないものだと思います。本新学術領域では、植物ではあまりきちんと定義されていない「幹細胞」を研究対象としていますが、幹細胞の新生・増殖・維持に関わる様々な生命現象を紐解く際にも、畏敬の念を忘れずに、その本質を見極めていきたいと考えています。昨年は計画・公募班員の研究室を訪ねるサイトビジットを行い、領域研究に携わる研究者の情熱を肌で感じる事ができました。次のステップは、領域研究の中で重点的に取り組む共同研究課題を抽出し、その成果

を生物分野全体に発信し、社会に還元していくことです。このような取り組みが、将来日本、また世界の人々の生命科学に対する関心を高めるのに一役買えることができれば、領域代表としてこの上ない喜びです。そうなるよう、これからも鋭意努力しますので、皆様のご指導を引き続きよろしくお願い申し上げます。

2019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
先端科学技術研究科 教授



アインシュタインが弾いたピアノの前で (奈良ホテル・桜の間)

2段階式シュート再生系における 幹細胞の新生と転換



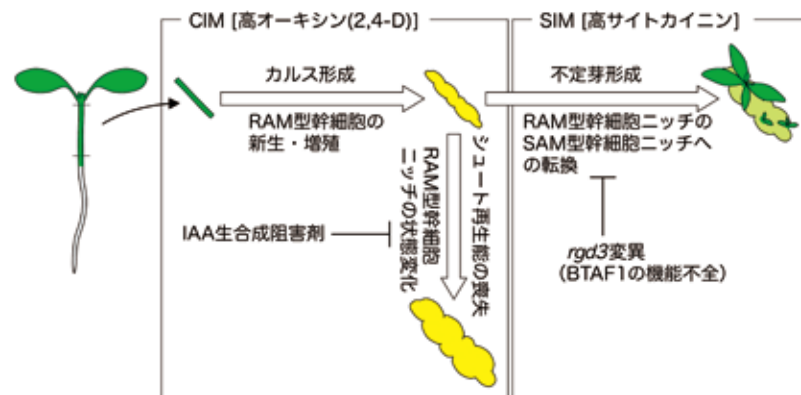
研究代表者

杉山 宗隆

東京大学大学院理学系研究科 准教授

植物は一般に再生能力が高いと言われます。実際、様々な刺激に応じて個体や器官を再生する現象が、多くの植物で知られています。身近なところでは、園芸や農業でよく行われる栄養繁殖に再生現象が含まれており、挿し木における不定根の形成は根の再生の一例、葉挿しにおける不定芽の形成はシュートの再生の一例です。こうした植物器官の再生では、幹細胞とそれを取り巻く微環境（幹細胞ニッチ）からなる頂端分裂組織の誕生が鍵を握っていると考えられます。

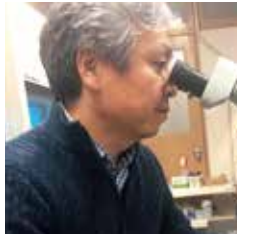
植物の組織培養では、植物ホルモンを操作することで、器官再生を制御できます。シュートを再生させる場合は、オーキシシン（とくに有効なのは合成オーキシシンの2,4-D）を多く含むカルス誘導培地（CIM）とサイトカイニンを多く含むシュート誘導培地（SIM）で順次組織片を培養する、2段階法が広く用いられています。最近の知見を総合すると、どうやらこの培養系では、まずCIMのオーキシシンに反応して根端分裂組織（RAM）型幹細胞ニッチをもつカルスが生じ、これがSIMのサイトカイニンに反応してシュート頂分裂組織（SAM）型幹細胞ニッチに転換し、不定芽のSAMが構築されるようです。すなわち、植物ホルモンに応じたRAM型幹細胞ニッチの新生とSAM型幹細胞ニッチへの転換が、シュート再生を実現していると考えられるわけです。



私たちはこれまで、主にシロイヌナズナの2段階式シュート再生系を用いて、器官再生の研究を行ってきました。その過程で、各種の阻害剤や変異体を用いた解析から、カルスが自ら作り出したオーキシシン（内生IAA）は培地に投与した2,4-Dとは異なる作用をもち、シュート再生能を抑えるようにはたらくことや、TATA結合タンパク質関連因子のBTAF1をコードするRGD3がSAMの構築に必須であることなどを見出しています。この内生IAAの効果は、オーキシシンはシュート再生能を励起するという固定観念に合わないもので、私たちにとても意外な発見でした。また、出芽酵母や哺乳類培養細胞でBTAF1が基本転写装置やクロマチン構造の調節に特殊な係わり方をすると推定されていることから、RGD3のSAM構築への関与は、シュート再生に伴う大規模な遺伝子発現変化の新たな仕組みの手掛かりになるものとして注目しています。

これらの結果を幹細胞の観点から捉え直すと、RAM型幹細胞の状態を内生IAAが変化させること、SAM型幹細胞ニッチへの転換にBTAF1依存の遺伝子発現制御が深く関わるのが想定されます。本研究ではこれを踏まえ、内生IAAの作用とBTAF1の機能を糸口、2段階式シュート再生における幹細胞の動態と制御機構を解き明かすことを目指して、解析を進めています。

植物幹細胞の非対称分裂と 細胞周期制御の連関



研究代表者

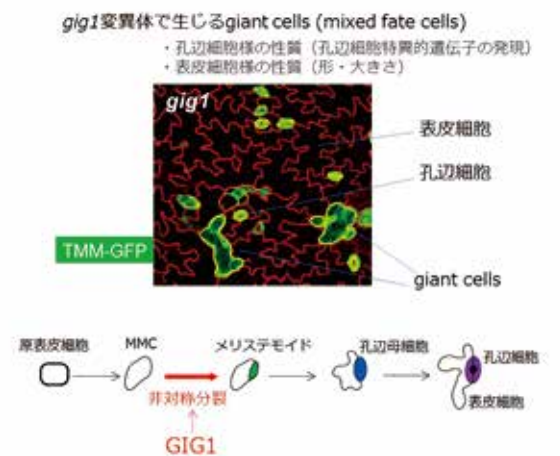
伊藤 正樹

名古屋大学大学院生命農学研究科 准教授

幹細胞は非対称分裂をすることにより、分化する娘細胞と分裂を続ける幹細胞自体を生み出しています。非対称分裂による細胞運命の振り分け機構は、ショウジョウバエや哺乳動物のモデル系において詳細に研究されており、親細胞で発現する細胞運命決定因子が、2つの娘細胞に不均等に受け継がれる仕組みが明らかにされています。しかし、細胞運命決定因子NumbやNumbの局在を指令するPar複合体など、動物では種を超えて保存されている因子群が、植物のゲノム中には存在しないことなどから、細胞壁を持ち特有の様式で分裂する植物細胞は、動物において解明された仕組みとは全く異なる独自のメカニズムにより非対称分裂を行っている可能性があります。本研究の狙いは、このような植物細胞の非対称分裂の謎にチャレンジし、ブレイクスルーをもたらすことです。私たちはこれまで、一貫して細胞周期制御に関する研究を続けてきており、その過程で細胞周期因子と非対称分裂の連関を示唆する複数のケースを見出しています。本研究では気孔の発生過程における非対称分裂に焦点をあて、細胞周期制御と分化の関連、さらには細胞運命が姉妹細胞に分配される仕組みにアプローチしようとしています。気孔を取り囲む孔辺細胞の分化は、その前駆細胞であるメリステモイドが非対称分裂を繰り返したのちに引き起こされます。メリステモイドは分裂の度に、メリステモイドの運命を引き継ぐ細胞（メリステモイド自身）と、表皮細胞に分化する娘細胞を生み出します。このような非対称分裂を数回行った後、メリステモイドは最終的に孔辺母細胞、さらに孔辺細胞へと分化します。このような性質を持つことから、メリステモイドは、一過的な幹細胞として捉えることができます。

私たちの研究は、以下の3つの観察を研究の出発点としています。1) シロイヌナズナgig1変異体では、M期の制御に重要なAPCユビキチンリガーゼの活性制御に欠損を持ち、その結果、孔辺細胞と表皮細胞の両方の性質を合わせ持つ特有の細胞（mixed-fate cell）が生じます。この細胞は、メリステモイドの非対称分裂において、APC標的タンパク質が細胞運命決定に影響した結果生じたものと考えられます。2) MUTE遺伝子は通常、

メリステモイドが非対称分裂を行う際に、メリステモイドの性質を引き継ぐ娘細胞にだけ発現します。しかし、GIG1過剰発現体では、この遺伝子が両方の娘細胞で等しく発現してしまい、孔辺細胞の形成にも特徴的な異常を生じることが分かっています。3) G1/S期遺伝子の転写制御に重要なE2Fを完全に欠失した変異体では、メリステモイドの非対称分裂の回数が、野性が頼りも顕著に増加するというこれまでに報告のない表現型を示します。つまりE2Fは単に細胞分裂の制御を行うだけではなく、幹細胞としての性質に影響している可能性があります。本研究では、これまでに培ってきた細胞周期研究のノウハウやツールを駆使して、これらの事象を丹念に研究することにより、非対称分裂による運命決定の仕組みにアプローチしていきます。



図：シロイヌナズナgig1変異体の葉の表皮細胞の様子
葉の表皮では、ジグソーパズル型の表皮細胞と気孔を取り囲む孔辺細胞が分化します。孔辺細胞やその前駆細胞では、TMMなどの特定の遺伝子を発現することが分かっています。gig1変異体において特徴的に生じるgiant cellは、形や大きさは表皮細胞に似ていますが、孔辺細胞と同様にTMMを発現することなどから、表皮細胞と孔辺細胞の両方の性質を併せ持った細胞（mixed-fate cell）であると考えられます。GIG1は、メリステモイド（あるいはメリステモイド母細胞）の非対称分裂において、表皮細胞と孔辺細胞の運命を正しく振り分ける仕組みに関連していると考えられます。

気孔幹細胞の極性形成と非対称分裂の仕組みの解明



研究代表者

嶋田 知生

京都大学大学院理学研究科 講師

陸上植物のからだは、さまざまな機能をはたす多種多様な細胞から成り立っています。このような細胞の多様性を生み出す仕組みの1つが「非対称分裂」であり、多細胞生物の発生を支える基本的なシステムと言えます。本研究では、気孔幹細胞の非対称分裂の仕組みを追求することで、植物幹細胞の基盤原理の理解に迫りたいと考えています。

気孔は葉の発生にともなって、未分化な原表皮細胞から複数のステップを経て形成されます。この過程において、気孔前駆細胞であるメリステモイド母細胞が非対称分裂を行い、小さいメリステモイドと大きい娘細胞が形成されます。大きい娘細胞は孔辺細胞への分化能を消失しますが、メリステモイドはさらに1-2回の非対称分裂を行い、その後孔辺細胞すなわち気孔へと分化します。このためメリステモイドやその母細胞は気孔細胞系列における幹細胞と捉えることができます。

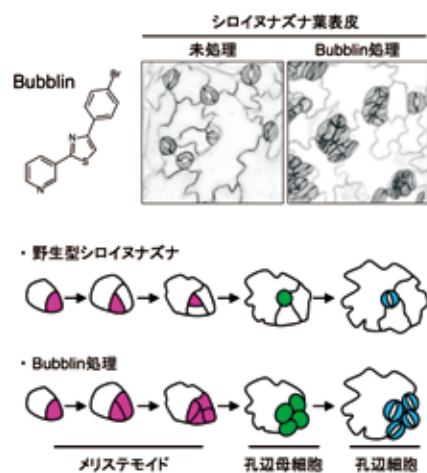
最近、私たちは気孔幹細胞メリステモイドの非対称分裂をかく乱する低分子化合物Bubblinを同定しました(1)。シロイヌナズナの芽生えにBubblinを処理すると、メリステモイドの極性形成が阻害され、分裂で生じた2つの娘細胞がともにメリステモイドとなり(すなわち対称分裂となる)、最終的に気孔クラスターが形成されます。Bubblinの作用機序を解明するため、本研究ではまずその標的因子の同定を目指しています。標的因子の同定には、分子遺伝学的手法と生化学的手法の2つのアプローチから迫っています。分子遺伝学的手法では、Bubblinに対する感受性の異なる2種類のシロイヌナズナ野生型系統を用い、遺伝子マッピングおよび次世代シーケンサー解析によりBubblin感受性の違いを生みだす責任遺伝子の同定を行っています。一方、生化学的手

法では、これまでに判明している構造活性相関を参考にして、アミノ基など修飾可能な官能基を導入したBubblin誘導体を合成し、ビオチン化や蛍光標識することで標的因子の同定やその細胞内分布を明らかにしようとしています。

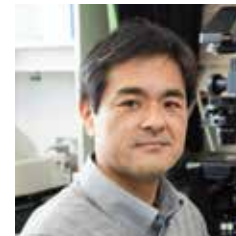
非対称分裂は性質の異なる2つの細胞を生み出し、多細胞生物には無くてはならないシステムです。しかし、動物とは独立に多細胞化した植物では、非対称分裂の仕組みに不明な点が多く残されています。本研究で得られる成果は、気孔幹細胞の理解の解明に留まらず、植物の非対称分裂の仕組みや、ひいては多細胞生物全体の普遍性と多様性の理解につながると確信しています。

参考文献

(1) Y. Sakai, S. S. Sugano, T. Kawase, M. Shirakawa, Y. Imai, Y. Kawamoto, H. Sugiyama, T. Nakagawa, I. Hara-Nishimura and T. Shimada, *Development* (2017) 144, 499-506.



オーキシンによる多能性幹細胞形成機構の解明



研究代表者

西浜 竜一

京都大学大学院生命科学研究科 准教授

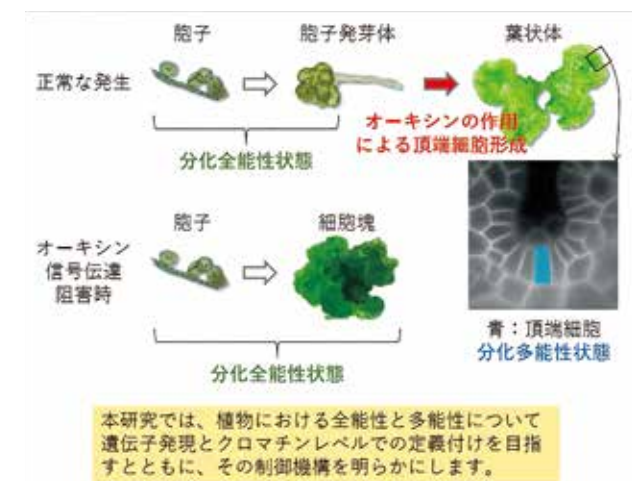
基部陸上植物であるコケ植物は、減数分裂で生じた胞子が発芽すると、細胞分裂を開始し、多細胞の植物体へと発生していきます。コケ植物苔類に属するゼニゴケは、非対称分裂を伴う発芽すると、小さい細胞は仮根へと分化しますが、大きい細胞はしばらくは無秩序な細胞分裂を行います(胞子発芽体期)。ある時点で1細胞が選ばれて、頂端細胞と呼ばれる多能性をもった幹細胞が生じると、頂端細胞を起点とした頂端成長と呼ばれる発生様式に切り替わり、3次元的な体軸をもった葉状体への形態形成が始まります。つまり、胞子発芽体の細胞はゼニゴケの全細胞種を生み出せる分化全能性状態にあり、頂端細胞は胞子発芽体細胞以外を生み出す分化多能性状態にあると捉えられます。我々は、植物ホルモン・オーキシンの信号伝達を阻害すると、胞子発芽体細胞はいつまでも無秩序な細胞分裂を繰り返すことを見出しました。このことからオーキシン信号伝達が頂端成長への発生様式の切り替えに必須であり、オーキシンが作用することで多能性幹細胞の形成が起こると考えられます。被子植物においても胚発生の過程で新規に多能性幹細胞を形成し、オーキシンがその制御に関わることが示唆されています。その具体的な仕組みについては盛んに研究されていますが、まだ十分にはわかっていません。そこで本研究では、オーキシンによる多能性幹細胞の形成機構を明らかにすることを目的としています。

まず、遺伝学的にオーキシン信号伝達を阻害することで分化全能性状態に留まっている均一な細胞群を得られるというゼニゴケの利点を活かして、このような細胞の発現プロファイル、およびオープンクロマチン領域やヒストン修飾などのエピジェネティック情報を調べることで、分化全能性状態にある細胞の特徴づけを行います。さらに、一斉にオーキシン応答を誘導して同様の情報を調べることで、多能性幹細胞に変化する仕組みを明らかにします。また、オーキシン低感受性変異体の探索により、拡大した幹細胞領域をもつ変異体や、細胞塊状になる変異体が得られ、オーキシ

ン応答性と幹細胞性の相関がここでも示唆されました。これらの変異体についても上記の特徴づけを行うとともに、責任遺伝子が幹細胞制御にどのような機能を果たすのか解析します。

加えて、オーキシン応答に関わる転写因子ARFが多能性幹細胞の形成や制御にどのように働くのかについて調べます。ゼニゴケに1分子種ずつ存在する転写活性化型ARFと抑制型ARFが機能的に拮抗する可能性について、遺伝学的に解析するとともに、それぞれ単独、あるいは2者複合体が結合するゲノム領域を同定し、拮抗性を検証します。さらにこれらのARFの幹細胞領域における発現部位を詳細に解析します。オーキシン応答制御に関わることが示唆されている低分子ペプチドEPFL-受容体ER経路による幹細胞制御の可能性についても検証していきます。

本研究により、植物における全能性と多能性について、遺伝子発現とクロマチンレベルでの定義付けを目指します。陸上植物に保存された幹細胞形成原理が明らかになると期待されます。



細胞壁が制御する
幹細胞の運命決定機構の解明

研究代表者

榊原 恵子

立教大学理学部 准教授

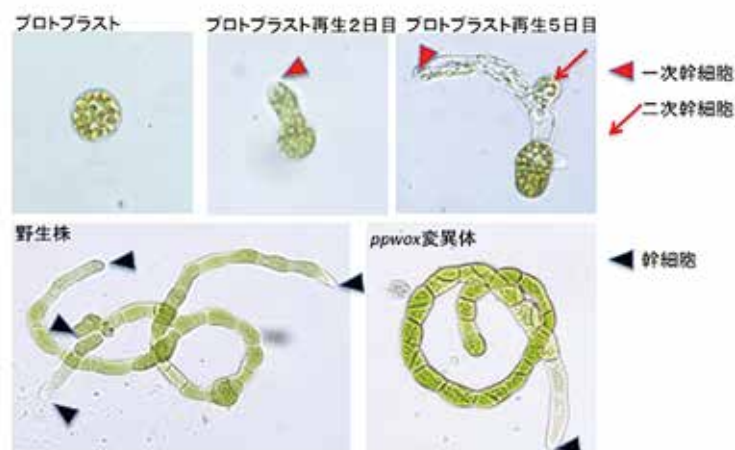
植物の器官分化や幹細胞形成・維持に細胞壁の力学的性質の制御の重要性が認められるようになってきました (Reinhardt et al., *Plant Cell* 10: 1427-1437 1998; Peaucelle et al. *Curr. Biol.* 18(24)2008: 1943-1948; Peaucelle et al. *Curr. Biol.* 21(20):1720-1726 2011) が、その仕組みはまだよくわかっていません。

再生能力の高いヒメツリガネゴケではプロトプラストを単離すると2〜3日のうちに不等分裂して、小さい方の娘細胞が幹細胞（図の一次幹細胞）となり、再生体を作ります。もうしばらくすると、一度非幹細胞へと分化した細胞が二次幹細胞へと分化することで枝分かれます（図の二次幹細胞）。私たちはプロトプラスト再生過程で、二次幹細胞のできない*ppwox*変異体を単離しました (Sakakibara et al., *Development* 141:1660-1670 2014)。野生株と*ppwox*変異体との比較トランスクリプトーム解析によって、細胞壁成分の調節に関わると予想される遺伝子の発現が変動していたことから、二次幹細胞形成には細胞壁成分の調節が重要なのではないかという仮説を立てています。プロトプラスト再生過程での細胞壁成分の微量定量解析（連携研究者：小竹 敬久）と、1細胞レベルでのトランスクリプター

ム解析（連携研究者：久保 稔、西山 智明）によって、この細胞壁の調節による新規幹細胞形成機構を明らかにしていきます。

新しいコケ植物モデル系確立の取り組み

コケ植物は陸上植物の進化の過程で最初に分岐した一群です。コケ植物と後に分岐した小葉類、シダ類、裸子植物及び被子植物を含む維管束植物を比較することで、陸上植物の初期進化の道筋を探ることができます。近年、コケ植物のモデルであるゼニゴケとヒメツリガネゴケを用いた進化研究成果が続々と報告されています (Higo et al., *Nature Communications* 9: Article number 5283 2018)。他にも魅力的なコケ植物の研究材料はたくさんあります。私たちの研究室では調べたい形質に応じて、コケ植物の中で最初に分岐し孢子体に無限成長メリステムをもつツノゴケ類 (*Anthoceros agrestis* 和名未定)、仮根がなく地上茎と地下茎をもつ茎葉性タイ類のコマチゴケ、AM菌類との共生が見られるフタバネゼニゴケなど、新しいコケ植物を使った研究にも取り組んでいます。興味のある方はぜひお声がけ下さい。

転写因子によるヒストン修飾制御を介した
幹細胞新生の分子機構

研究代表者

石川 雅樹

基礎生物学研究所 助教

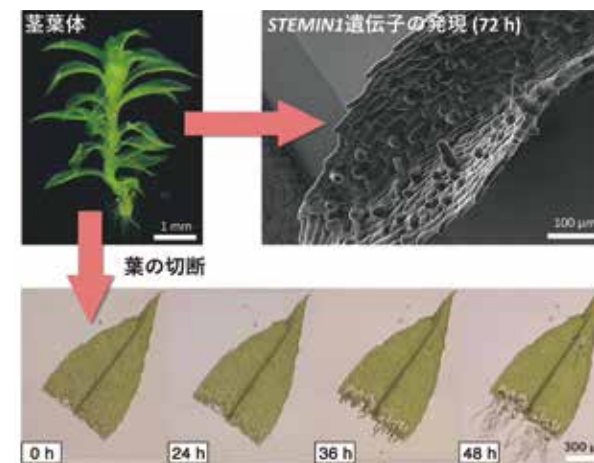
陸上植物は、環境に応答して容易に分化細胞から幹細胞を新生させることができます。例えば被子植物の場合、組織を切り離して植物ホルモン存在下で培養すると、一部の分化細胞が細胞分裂を再開してカルスを形成し、シュートや根を再生させることができます。この過程において、一部の細胞が幹細胞へと変化します。ところが分化細胞は、ヒストンメチル化などのクロマチン修飾により、細胞固有の分化状態を保っているため、幹細胞に変化させるためには、分化細胞のクロマチン修飾を変化させなければなりません。しかしながら、被子植物の幹細胞は増殖中の一部の細胞から生じるため、幹細胞に変化する細胞の特定が難しく、その分子機構は明らかになっていません。

コケ植物のヒメツリガネゴケは、茎葉体（図左上）から葉を切り離すと、切断面に接した葉細胞がカルスを経ずに原糸体幹細胞へと変化し、原糸体を形成します（図下）。これまでに私たちは、この実験系を用いて、葉を切断せずに茎葉体に発現させるだけで葉細胞を幹細胞に変えることができる *STEM CELL-INDUCING FACTOR 1* (*STEMIN1*) 遺伝子を発見しました（図右上： *STEMIN1* を発現した葉を走査型電子顕微鏡で撮影）。 *STEMIN1* 遺伝子は、AP2/ERF型転写因子をコードしており、幹細胞に変化する葉細胞で発現して細胞周期制御遺伝子や細胞壁関連遺伝子などの幹細胞化に必要な遺伝子を一括して制御します。また、 *STEMIN1* の直接標的遺伝子の多くは、転写抑制に機能する27番目のリジンがトリメチル化されたヒストンH3 (H3K27me3) が局在していますが、 *STEMIN1* 誘導後、細胞分裂前にH3K27me3修飾レベルが低下し発現が上昇することが分かりました。一方、 *STEMIN1* 標的遺伝子以外で発現が上昇する遺伝子では、そのような変化がほとんど見られませんでした。

H3K27me3修飾は、様々な生物において細胞の運命決定に主要な役割を果たしています。動物の多能性幹細胞では、分化関

連遺伝子がH3K27me3修飾を受けて遺伝子発現が抑制されており、分化開始時にその修飾レベルが低下することで、遺伝子発現がおこり細胞が分化してきます。植物でも、H3K27me3修飾を触媒するポリコームタンパク質を欠失させると、分化状態の保持や発生プログラムの抑制が解除されます。従って、分化細胞を幹細胞に変えるには、特定の遺伝子領域でのH3K27me3修飾を変化させることが一つの鍵になると考えられます。

そこで私たちの研究グループでは、ヒメツリガネゴケの *STEMIN1* 発現による幹細胞誘導に着目し、 *STEMIN1* がどのような因子や経路を活性化して *STEMIN1* 標的遺伝子のH3K27me3の脱メチル化を誘導するのか、その分子機構の解明を目指します。 *STEMIN1* ホモログは被子植物にも広く保存されているため、本研究により、植物全体の幹細胞新生におけるクロマチン修飾変化を制御する分子基盤の理解に繋がることが期待されます。



非生物ストレスによる幹細胞新生の分子メカニズム



研究代表者

岩瀬 哲

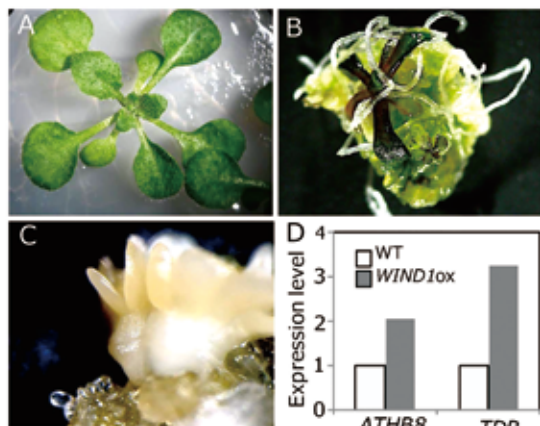
理化学研究所 環境資源科学研究センター 研究員

1つの細胞が、体を構成するすべての細胞に変化できる潜在能力を分化全能性といいます。私たちヒトでは受精卵がその能力を持っていますが、個体発生で細胞の分裂と分化が進むにつれて個々の細胞の分化全能性は失われていきます。ところが、植物では一度分化した1つの細胞でも分化全能性を発揮できることが1950年代後半～1970年代前半の種々の実験から証明されています。例えば、単離した1つの葉肉細胞を脱分化させ、組織培養条件下で多能性を有した細胞塊（カルス）を誘導後、幹細胞を新生させることで植物個体全体を再生できます。この植物の高い再生能力は、農林業・園芸・医薬分野で優良株の大量生産や育種、有用物質生産等に利用され、私たちの暮らしを豊かにしてきましたが、どのような機構で再び分化全能性を発揮するのか、脱分化した細胞がどうやって幹細胞を新生するのかなど、分子レベルでは分かっていないことが沢山あります。私は、それらの謎を解き明かしていきたいと思います。

植物の再生現象は自然界でもよくみられますが、他の生物の再生現象と同様に、傷ストレスが引き金となります。さらに植物では傷以外の非生物ストレス、例えば浸透圧や熱、重金属などのストレス処理でも幹細胞新生を促せることが報告されています。私は共同研究者とともに、傷ストレスによって傷口で発現し、カルス形成やその後の幹細胞新生を促進するスイッチタンパク質（WIND転写因子）の遺伝子をこれまでの研究から見つけています。また、そのような脱分化関連遺伝子の発現を通常の植物の発生・成長段階では抑える機構があることを明らかにしています。本新学術領域での研究では、これまで注目してきた傷ストレスに加え、その他の非生物ストレスにも着目し、特にスイッチタンパク質の働きによって幹細胞がどのように新生するのか、またそれらの遺伝子発現を抑える機構がストレスによってどのように打破されるのかについて明らかにしていきます。

WIND転写因子(WIND1～WIND4)の遺伝子を過剰発現させたシロイヌナズナでは、組織培養で通常必要とする傷ストレス処理や植物ホルモン処理をしなくても、種々の組織・細胞がカルス化します。さらに、WIND1誘導で生じたカルスからは、不定芽、不定根をはじめ、不定胚の再生が観察されることから（図）、WIND1によって茎頂、根端、維管束幹細胞の形成や維持に関与する遺伝子が発現誘導され、

幹細胞新生を促進する分子経路の存在が予想されます。そこで、WIND1に制御される遺伝子を特定するために、WIND1遺伝子の発現を人為的に誘導できる植物体や、WIND1の働きを抑えた植物体を用いて、ストレス条件下における遺伝子発現の変化を経時的・網羅的に調べることができるRNA-seq解析を行っています。また、WIND1が直接的にターゲット遺伝子の領域に結合するのかを網羅的に調べるためにChIP-seq解析を進めています。これらの手法によって選抜された遺伝子の機能促進植物体や抑制植物体を用いて、種々のストレス条件におけるカルス化や再生能を評価します。これにより、ストレス→WIND1→下流遺伝子→幹細胞新生の分子経路を明らかにすることができます。この他、種々の非生物ストレスや、ストレスによって誘導される因子が、どのようにDNAを巻きつけるヒストンタンパク質の化学修飾を変化させ（エピゲノム変化）、幹細胞新生に関与する遺伝子発現に影響を与えるかについてChIP-seq解析等を用いて調べていきます。これらの解析の成果は、ストレスにตอบสนองして多能性を獲得するための階層的な分子機構解明という基礎科学的に重要な知見をもたらすだけでなく、植物の再生工学等、応用科学にも有益で大きなインパクトを与えられると期待しています。



図：WIND1の過剰発現(WIND1ox)植物では様々な幹細胞新生とマーカー遺伝子の発現が見られる。

A:シロイヌナズナ野生株(WT). B:茎葉と根を再生しているWIND1oxカルス. C:不定胚を再生しているWIND1ox植物. D: WIND1oxカルスでの維管束幹細胞マーカーの発現(WT=1)

寄生植物の寄生器官をつくる幹細胞の運命制御機構



研究代表者

吉田 聡子

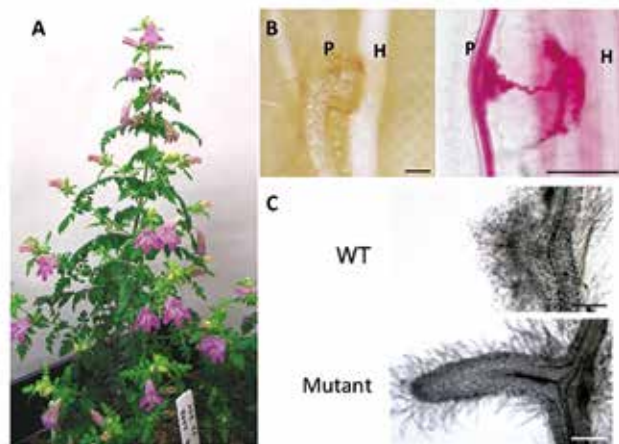
奈良先端科学技術大学院大学 特任准教授

寄生植物、と聞いて何が思い浮かぶでしょうか？冬に葉を落としたケヤキや桜の木の上にある緑のボールのようなヤドリギや、生花でも用いられるススキの根元のナンバンキセル、世界一大きな（単体の）花で有名なラフレシアも寄生植物です。寄生植物とは、他の植物の中に入りこみ栄養をもらって暮らす植物のことです。寄生植物の一番大きな特徴は、「吸器」と呼ばれる寄生器官を作ることです。吸器とは、根や茎の組織が変化したもので、寄生される側の植物（宿主植物といいます）を認識して発達し、宿主へ付着、そして宿主植物の組織の中へ侵入し、宿主と維管束をつなげて水や栄養分を得ることができるようする器官です。私たちの研究グループでは、ハマウツボ科の寄生植物コシオガマを使って、この吸器がどうやって発達し、宿主の中へ侵入できるようになるのかを研究しています。

コシオガマは、寄生しなくても生きていくことができる条件的寄生植物で、宿主植物が近くにあるときだけ、自身の根の側方に吸器を形成します。吸器の誘導には、宿主の細胞壁の構成成分または分解産物であるキノンやフェノール酸がシグナルとして働くことが知られています。吸器誘導のシグナルを受けると根の細胞が再び分裂を開始し吸器の形成が始まります。吸器の先端部には細胞分裂が活発な細胞層があり、この細胞が分裂を続けることで吸器が伸長し、宿主の根に到達することができます。

その上、この先端の細胞層は宿主根に到達するとその形と役割を変化させます。それまで小さい分裂細胞であった吸器先端の細胞は、細長い形状を取る侵入細胞に変わり、この細胞は宿主の組織をこじ開けて中に入っていくことができるようになります。私たちは、この吸器の先端の細胞層に吸器が伸び続けるかどうかを決定し、分裂細胞から侵入細胞への変化を制御する「吸器幹細胞」があると考えています。

では、吸器幹細胞はどうやって吸器先端細胞の分裂や侵入細胞への変化を制御しているのでしょうか？私たちはその疑問を解くために、コシオガマの変異体を単離しました。その変異体では、吸器は作れるのですが、宿主が近傍に存在しないのに、先端細胞の分裂を止めることができません。さらに、宿主がいる場合には、宿主に到達しても侵入細胞を作ることができず、宿主の根に入ることができません。つまり、宿主植物が近くにいるかどうかを感知して、吸器先端の細胞の分裂や侵入細胞へ変化しをコントロールする遺伝子が壊れていると考えられます。私たちは、この変異体を解析することで、寄生植物がどのように宿主植物を認識し、吸器の細胞運命を繊細に制御しているのか、そしてどのように宿主から栄養を奪うことができるようになったのかを解明します。



コケ植物から解き明かす植物幹細胞に特有の動作原理



研究代表者

藤田 知道

北海道大学大学院理学研究院 教授

幹細胞は自己複製するとともにより分化した細胞を生み出します。動物でも植物でもこれは同じです。幹細胞が性質の異なる2つの細胞に分かれる過程を不等分裂あるいは非対称分裂と呼びます。植物では孔辺細胞や分裂組織の幹細胞などに着目し、不等分裂に関わる因子がいくつか明らかとなってきました。しかし植物幹細胞における非対称性の形成（極性形成）や不等分裂の分子機構、あるいはこれらの制御が動物幹細胞と比べてどの程度違うのか、またそれは何故なのかなどまだ多くのことが現在でもよくわかっていません。

私たちはモデルコケ植物ヒメツリガネゴケの原糸体の頂端幹細胞に着目し、頂端幹細胞が極性を形成し、不等分裂するしくみを研究し、動植物の幹細胞の生まれや振る舞いの共通点や相違点の理解を目指します。

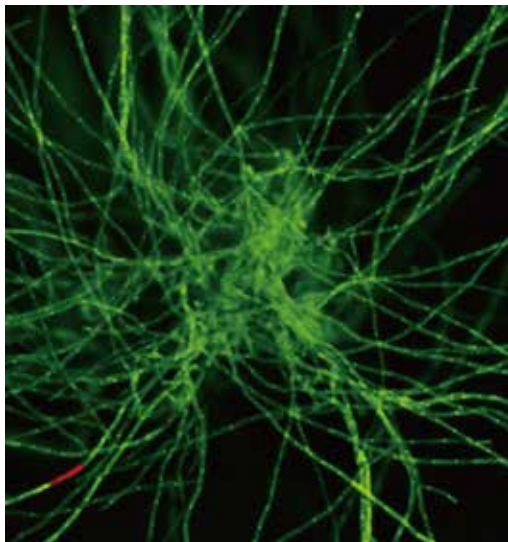
ヒメツリガネゴケ原糸体の頂端幹細胞は細胞が露出しており生きたままで容易にその挙動が観察できます。さらに頂端幹細胞が乾燥などの環境ストレスに曝されると不等分裂なくなり、等分裂によりどちらの娘細胞もストレス耐性細胞(Brood cell)になるという興味深い現象を見出しました。どちらのストレス耐性細胞も等分裂を繰り返しますが、やがてストレスがない環境になると、ストレス耐性細胞は再び極性を形成し頂端幹細胞ができ、不等分裂により増殖を再開します。このようにヒメツリガネゴケの幹細胞は周囲の環境変化に応じて細胞分裂の仕方を切り替え、増殖を続けています。

植物幹細胞が周囲の環境変化をどのように感知し、その情報をどのように細胞内に伝え、その分裂様式や細胞運命をどのようなしくみで変化させるのかはまだよくわかっていません。そこでこの分裂様式の切り替えに関わり、とりわけ液胞や細胞壁（どちらも植物細胞には存在し動物細胞には存在しません）の制御に重要な働きを持つと考えている2種類のタンパク質に着目し、それらの機能を調べることでこれらの制御機構を明らかにしていきます。

また幹細胞の運命制御には細胞同士のコミュニケーションの制御が重要です。動物では細胞間コミュニケーションはギャップ結合などが担う一方、植物では全く構造の異なる原形質連絡（プラスモデス

マータ）が重要な働きをしています。コケ植物の原糸体でも頂端幹細胞の破壊により細胞間コミュニケーションが遮断されると、隣の非幹細胞が幹細胞化することが知られています。しかし原形質連絡そのものを制御する因子やそのような制御に至るまでのシグナル伝達系はまだよくわかっておらず、その分子制御機構の大部分は謎のままです。

私たちはヒメツリガネゴケの原糸体が、やはり細胞間コミュニケーションの研究に優れた実験系となることに気づき、光変換型蛍光タンパク質を組み込み高分子移動が可視化できるヒメツリガネゴケ株を開発しました。この株を用いることで細胞間コミュニケーションの変化を生きたまま、かつ定量的に捉えることが可能です。そこでこの実験系を用い、原形質連絡による細胞間コミュニケーションがどのように細胞の位置情報を制御し、幹細胞の運命制御に関わるのかの解明を目指しています。



光変換型緑色蛍光タンパク質を発現しているヒメツリガネゴケ原糸体(Kitagawa and Fujita, 2013)。丸い小さな緑のドットは核の部分であり、光変換により赤色の蛍光を発する1細胞が左下に見られる。

植物幹細胞におけるミトコンドリア超融合とゲノム増幅仮説の検証



研究代表者

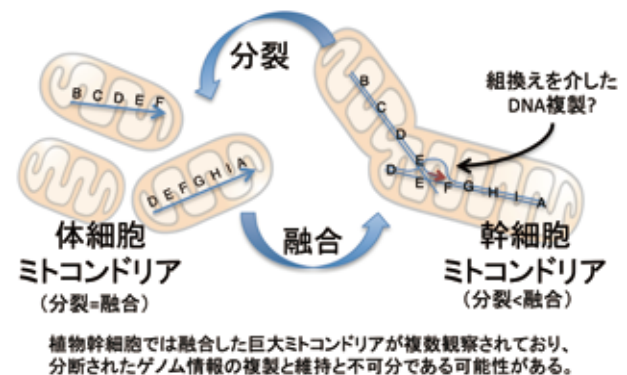
有村 慎一

東京大学大学院農学生命科学研究科 准教授

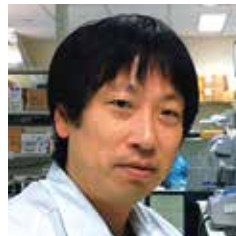
植物の茎頂分裂組織（幹細胞）や、体細胞の脱分化再生（幹細胞化）過程において、融合巨大ミトコンドリアが存在/出現することが複数報告されています。一方、体細胞では小型粒状のミトコンドリアが数百個存在し、その各々はミトコンドリアゲノムを一部しか持たないことも知られています（平均するとゲノムの1/3以下のDNA量、中にはDNAを一切持たないものも多い）。このようにゲノム情報の一部しかもっていないミトコンドリアは、分裂と融合を繰り返すことで、たりないゲノム情報を共有相補して機能すると考えられています。他方で、幹細胞では植物ミトコンドリアゲノムは数百倍に複製増殖され超多倍数体状態を形成し、その後連続する細胞分裂時には分配するに任せることが報告されています。これらの知見は複数の植物種を対象とした個別研究によるものですが、植物幹細胞の共通する特徴として、「ミトコンドリアの融合巨大化」と「ミトコンドリアゲノムの超多倍数体化」が起こっている可能性が考えられます。また、体細胞が脱分化再生・幹細胞化する途上では、各ミトコンドリアに分断保持された断片DNAから、ミトコンドリアゲノム全体をきちんと増殖・複製する必要があり、ミトコンドリアが融合し「巨大ミトコンドリア」を形成することは、分断された線状DNA断片を会わせゲノム全長を増殖維持する為に必要である可能性が考えられます。本申請研究では、多数種の植物研究・文献をつなぎ合わせてできたこの仮説について、主にシロイヌナズナ・ゼニゴケを用いて系統的・統一的にこれらの現象とその作動順序を検証・確認することを目的の一つとします。そして、申請者がこれまで作製したミトコンドリア分裂突然変異体や分裂促進形質転換体を材料として同様の解析をすることで、幹細胞におけるミトコンドリア巨大化とゲノム増幅状態の生理的意義を解析し検討します。また、このミトコンドリア形態変化過程でのミトコンドリア分裂因子DRP3,ELM1の挙動解析を行うことで、幹細胞/体細胞間ミトコンドリア形態変化過

程におけるミトコンドリア分裂・融合の分子制御機構の一旦を明らかにしていきます。

また、植物ミトコンドリアゲノムは未だに形質転換が不可能です。我々は最近、植物ミトコンドリアゲノムの編集技術（標的遺伝子破壊）に成功しました。この技術の効率化改良をめざし、植物幹細胞でのミトコンドリアゲノムの切断破壊・修復後変化について、この領域の研究자들의協力を得て進展させています。1細胞内に50コピー以上ある破壊標的を効率的に破壊し、また未改変のゲノムや複数の修復改変ゲノム間の混在（ヘテロプラスミー状態）からホモプラスミー状態への変化等、小数の幹細胞においてこの過程を引き起こすことは、安定した植物ミトコンドリアゲノム改変技術確立の上で鍵となる要素の1つであります。前段の研究とともに、これらの研究を通して、植物幹細胞の特徴や制御を、ミトコンドリアを中心とした細胞生物学的視点から明らかにし、また、領域からの知見とご協力からミトコンドリアゲノム改変技術改良につなげ、本領域の研究進展に貢献していきたいと考えています。



植物幹細胞研究を加速させる植物ホルモンの高分解能検出～蛍光タンパク質を利用したセンサー開発～



研究代表者

北口 哲也

東京工業大学 准教授

植物ホルモンは、幹細胞の増殖、維持、分化など植物の成長のあらゆる場面で重要な働きをしており、時空間分解能高く検出できるセンサーの開発が強く望まれています。現在使用されている植物ホルモンセンサーは、蛍光タンパク質の発現誘導を検出するレポーター型や、蛍光タンパク質融合タンパク質の分解を検出するテグロン型が主流であり、時空間分解能が高い検出にはあまり適していません。そこで私たちのグループでは植物ホルモンに応答して、素早く蛍光輝度変化を起こすセンサーを開発することを目指します。特に、植物幹細胞における植物ホルモンの濃度分布を時空間分解能高く検出することができれば、植物発生学を飛躍的に加速させることができ、この新学術研究領域はもちろんのこと、植物生理学全体を発展させることができると考えています。

私たちのグループはこれまで蛍光タンパク質を基盤としたセンサーの開発に成功しています。これらのセンサーは、cAMP、cGMP、ATPの濃度変化に応答して、蛍光輝度が変化する遺伝子コード型のセンサーです。それぞれcAMP、cGMP、ATPに結合するタンパク質を蛍光タンパク質と巧みに融合し、センサーとして機能するように設計しています。リンカー領域（結合タンパク質と蛍光タンパク質との間

の領域）のアミノ酸の長さや配列を最適化する手法により、輝度変化率の大きいセンサーをスクリーニングすることができることから、さまざまなセンサー開発に応用できる技術です。さらに、蛍光タンパク質と抗体を融合させるFlashbody技術も利用します。この技術も私たちのグループが開発した技術で、結合タンパク質を抗体に変更することで、検出分子の分子認識能を拡張させるものです。Flashbodyは抗体の分子認識能を用いるため幅広い植物ホルモンの適用できます。開発予定のセンサーは遺伝子コード型センサーであることから植物個体への導入が容易で、植物ホルモンの動態を時空間分解能高く検出することが期待できます。

着目している植物ホルモンはジベレリン、サイトカイニン、オーキシンです。ジベレリンセンサーとオーキシンセンサーは公募班の伊藤グループと、サイトカイニンセンサーは榊原グループと協力しあって構築していく予定です。また、新たな植物ホルモンセンサーも領域内の研究者と開発していきたいと考えています。最終的には、センサーを発現するトランスジェニックシロイヌナズナを作製し、茎頂や根端の幹細胞におけるジベレリン、サイトカイニン、オーキシンなどの植物ホルモンの時空間動態を検出します。

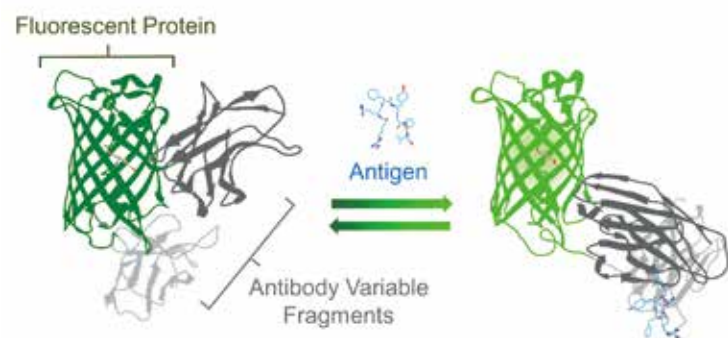


図: Flashbodyの模式図 (Wongso et al., Anal Chem 2017)

受精・胚発生過程における植物幹細胞の新生と維持の機構解明



研究代表者

武内 秀憲

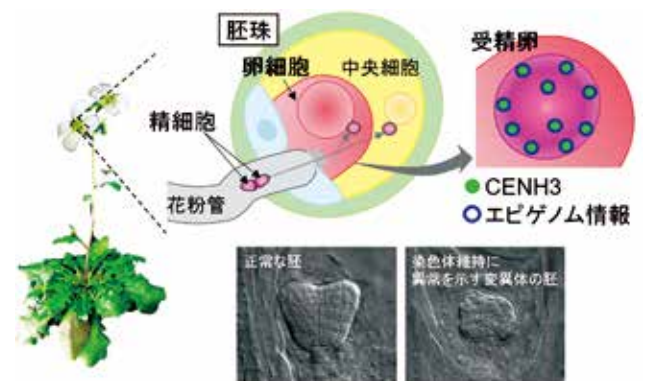
名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所 特任助教

被子植物の受精は、将来種子となる雌しべの胚珠の中で行われます。胚珠の中にある卵細胞は雄の精細胞と融合（受精）することで受精卵となり、次世代個体の全ての細胞の元となる胚を形成していきます。この受精・胚発生は、正常な種子の発達ひいては次世代個体へと命を繋げるために重要な過程です。高度に分化した卵細胞は受精によりリセットされ、受精卵から初期胚へと動的に性質を変えつつ分裂・分化を進めていきます。このような受精時にプログラムされた細胞特性の変化は、被子植物のみならず有性生殖を行う動植物に共通して見られるものです。このことから、根源的な幹細胞とも言える受精卵・初期胚を特徴付ける仕組みを調べることは、幹細胞性の確立・維持の普遍原理の解明にもつながると考えられます。

私たちは、被子植物の受精・胚発生の過程において遺伝情報の伝達と発現を担う染色体がどのように維持され、活性化されているかに興味をもっています。特に、染色体維持装置形成の中核となるヒストンバリエントCENH3の新規積み込みの仕組みに注目して研究しています。CENH3（CENP-Aとも呼ばれる）は染色体のセントロメア領域を特異的にマークするヒストンH3バリエントで、細胞分裂時の染色体維持に必須の因子です。興味深いことに、CENH3は卵細胞では検出されず、受精後にセントロメア領域に新規に積み込まれることが観察されています（図）。また、基本的には全ての真核生物においてCENH3様のヒストンが動原体形成の中核をなすという共通の機能を担っている一方で、そのアミノ酸配列は種間で大きく変化しています。以上の背景のもと、私たちは「1. 受精卵におけるCENH3の新規積み込みとそれを制御し得るエピゲノム動態の制御機構の解明」、「2. 植物では未知のCENH3積み込みを担うヒストンシャペロンの同定と種特異的なCENH3認識機構の解明」の2つを研究目標にしています。

蛍光マーカー植物やエピゲノム因子の変異体など様々な材料が

容易に準備できるシロイヌナズナを用いて、植物生殖組織に対する透明化観察や固定染色による解析を進めています。染色体の維持や活性化の動態を明らかにするために、雌しべから取り出した胚珠の培養と組み合わせたライブイメージング解析も行っていく予定です。また、植物では未知のCENH3の積み込み関連因子を同定するために、逆遺伝学的・生化学的なアプローチにより幅広く候補を探索し、これまでにcenh3変異体と同様に胚発生異常を示す変異体を得ることに成功しています（図）。異なる植物種との比較を通じて、シロイヌナズナを含む被子植物のCENH3の積み込みに重要なタンパク質領域も決定できました。今後は、受精卵で行われるCENH3の認識とセントロメア領域への新規積み込みの仕組みだけでなく、関連するエピゲノム情報とのネットワークを明らかにしていくことで、その後の胚発生にも影響を及ぼす染色体の維持・活性化の実体を把握します。さらに他の研究班とも連携することで、卵細胞－受精卵－初期胚の変遷過程で見られるようなエピゲノム・CENH3の動態が、傷害や植物ホルモンに応答した細胞運命の転換時にも見られるのかを調べる予定です。これにより、分化した細胞がリセットされる仕組みや幹細胞性の確立・維持の仕組みの共通原理に迫りたいと考えています。



内鞘細胞幹細胞性原理の解明



研究代表者

柿本 辰男

大阪大学大学院理学研究科 教授

植物の根系は、主根に側根が形成されることで出来ます。種子植物では側根形成は内鞘細胞に由来します。側根形成の最初のステップは、一部の内鞘細胞において自発的にオーキシン濃度のピークが作られ、その位置の内鞘細胞がオーキシン依存的に不等分裂をすることです。植物細胞は全能性を持っていると言われますが、どの細胞でも全能性を持っているかという、そうではなさそうです。シロイヌナズナの根にオーキシンを与えると内鞘細胞の細胞分裂が誘導されますが、内鞘細胞よりも外側に存在する細胞では細胞分裂は全く誘導されません（内側は維管束系なので二次肥厚の細胞分裂があるのでわかりにくい）。カルス化させる条件に置いても、細胞増殖が起きるのは内鞘細胞だけです。つまり、内鞘細胞は細胞分裂能を維持したまま静止している幹細胞と言えます。

ここで、内鞘細胞の幹細胞性に関して未解決の幾つかの疑問が生

じます。1. 内鞘細胞を内鞘細胞たらしめる転写ネットワークの鍵因子は何か？ 2. 内鞘細胞は静止時には細胞周期のどのような時期にあるのか？ 3. 内鞘細胞は核内倍加せずに静止しているのか？ 4. どうして内鞘細胞だけがオーキシン依存的細胞分裂能を維持しているのか。これらの問題を解き明かそうとしています。

内鞘細胞アイデンティティ決定の鍵因子の探索としては、内鞘細胞で発現する転写因子に注目し、過剰発現や遺伝子破壊株の解析で内鞘細胞アイデンティティ決定における役割を解析しています。内鞘細胞の細胞周期については、細胞周期マーカーを用いたタイムラプス観察によって解析します。内鞘細胞の核のDNA量を測定します。また、鍵因子の作用を調べることで、オーキシン依存的細胞分裂能の分子基盤を解明します。

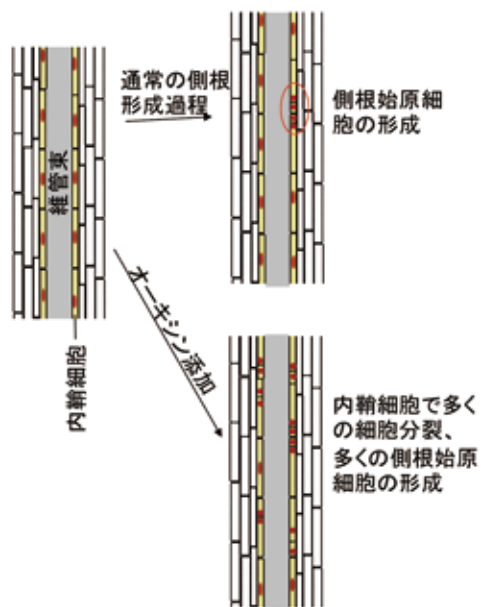


図. 内鞘細胞は通常は自発的に形成されるオーキシンピークに反応して細胞分裂を開始し、側根原基の形成に至ります。オーキシンを添加すると内鞘細胞は盛んに分裂しますが、内皮、皮層、表皮などは細胞分裂をしません。内鞘細胞のこの幹細胞性はどのように作られているのかに興味を持っています。内鞘細胞の核は赤色で示しています。

花幹細胞の終結過程における遺伝子ネットワークの冗長性と協調性



研究代表者

伊藤 寿朗

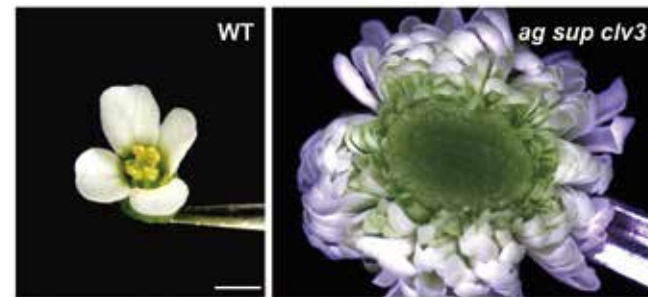
奈良先端科学技術大学院大学 教授

植物は種子を作るために、花においては幹細胞の働きを止めて、生殖器官を分化させる必要があります。もし、花の幹細胞が増殖を止めないと、花はどんどん大きくなる代わりに本来の雄しべ、雌しべを作ることができないため、次世代の種を残すことが出来なくなります。お米やパンなどの穀物類は植物の種であり、花が幹細胞活性をうまくコントロールすることは人間にとっても重要なイベントです。私たちの研究室では、植物の幹細胞の終結過程にどのような遺伝子がどのようにして機能しているのかを研究しています。とくに、本新学術研究では、これまでの遺伝学的解析から同定されながらも長い間、わかっていなかった遺伝子の機能を分子レベルで明らかにすること、さらに単一変異の解析では見落とされていた遺伝子機能を多重変異体の活用により分子遺伝学的に解明することを主目的としています。

シロイヌナズナの花幹細胞の抑制には、AGAMOUS (AG)、SUPERMAN (SUP) の2つの転写因子と、CLAVATA3 (CLV3) ペプチドリガンドによる3つの遺伝学経路が機能していることが知られています。私たちは、これらの経路がそれぞれどのように作用しているのか、さらに一見、遺伝学的には独立して機能してみえるこの三つの経路が、どれほどの冗長性を持ち、どのように協調的に作用して花幹細胞の旺盛な増殖能を抑制しているのか、を解析しています。多重突然変異体における発生ステージごとの走査型顕微鏡での表現型解析、幹細胞ニッチのマーカーを活用した共焦点顕微鏡によるマーカー解析、および突然変異体や活性の誘導系を用いたRNA-seqによる発現解析を行うことによって作用機構を分子遺伝学的に解明してきました。最近の成果としては、AGの下流ではたらくCRABS CLAW (CRC) という転写因子は植物ホルモンオーキシンの輸送や生合成を制御することで幹細胞の働きを抑えていることを示しました (*Nature Communications* 8:1125, 2017; *Nature Communications* 9: 5290, 2018)。オーキシンの合成には YUCCA という酵素遺伝子が制御されていますが、まず AG が

YUCCA 遺伝子座に結合して、クロマチン構造を変化させた後に、CRC が結合するという作用様式が見つかりました。また、SUP も YUCCA 遺伝子の発現制御をすることで、花幹細胞の増殖抑制の働きをもちます (*EMBO Journal* e97499, 2018)。SUP はヒストン修飾に関わるポリコムタンパク質と直接結合して、転写の抑制にはたらくヒストン修飾を YUCCA 遺伝子に蓄積させることで、転写抑制していることがわかりました。

SUP と CRC はそれぞれ花発生の異なった時期に発現して、オーキシンの輸送や生合成を調節することで花幹細胞の増殖抑制を行っています。しかし驚くべきことに、この二つの転写因子のオーキシンへの作用は逆向きであり、SUP は花発生初期にオーキシン合成酵素の発現を抑制しているのに対し、CRC は、花発生中期にオーキシン量を高めるはたらきがあります。現在、SUP と CRC のオーキシン制御に関したパラドックスを理解するために、*sup crc* 二重突然変異体を作出して、花の表現型および実際のオーキシン量を時間軸に沿って解析しています。さらに細胞生物学的な解析として、細胞壁画分のモノクローナル抗体染色、物理的な堅さの測定を行うことで、一件矛盾しているように見える SUP と CRC によるオーキシンの時空間的な制御機構を明らかにしようとしています。



シュート多能性幹細胞群の永続性を支える 茎頂分裂組織の成長パターン制御機構の 解析



研究代表者

相田 光宏

熊本大学国際先端科学技術研究機構 教授

茎頂分裂組織は、葉や茎、花器官など、主に植物体の地上部を構成する器官をつくるもとになる組織です。この組織は一般に横に広がったドーム状の形をしており、その先端中央部に一群の幹細胞を保持しています。茎頂分裂組織の細胞は、水平方向へ細胞を増やすように分裂してその領域を拡大しようとする一方で、組織の周辺部では一定の割合で器官原基に分化するため、分裂組織のサイズそのものは一定に保たれます。このような、茎頂分裂組織に特徴的な成長方向の制御は幹細胞の維持に重要だと考えられますが、そのメカニズムの詳細はわかっていません。

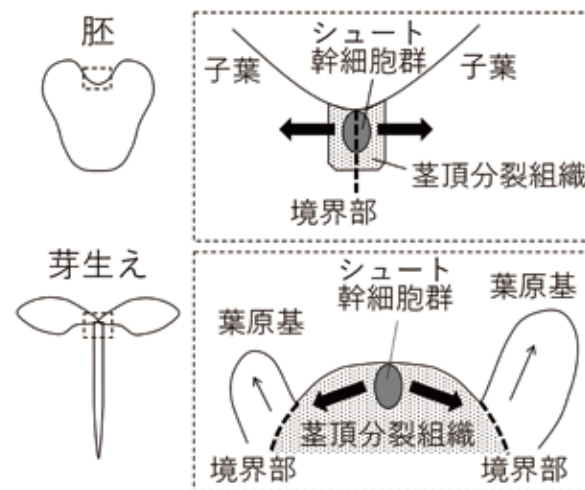
私達はシロイヌナズナのNAC型転写因子をコードする*CUC1*・*CUC2*・*CUC3*遺伝子の研究から、これらの因子が胚発生における茎頂分裂組織の形成に必須であり、その主要な下流因子の一つとして*STM*を同定しています。*STM*はKNOX型の転写因子をコードしており、茎頂分裂組織と幹細胞の維持に必須な因子です。さらにこの遺伝子の変異体に特徴的な性質として、茎頂分裂組織の水平方向への拡大が阻害され、分裂組織の細胞がすべて葉原基に分化してしまうことが分かっています。このことから、*STM*は分裂組織の水平方向への拡大に必須な鍵因子であることがわかります。

一方、私達はマイクロアレイによる解析から、*CUC*の下流にオーキシンの生合成やシグナル伝達に関わる遺伝子があることを示唆する結果を得ました。オーキシンは器官原基の形成に重要な役割を果たすホルモで、原基が形成される場所ではオーキシンに対する応答が高まります。このオーキシン応答が高まる部位はAuxin maximumと呼ばれ、ちょうど*STM*が発現する領域と相補的な関係になっています。また、このAuxin maximumの付近では組織の成長方向が茎頂分裂組織のそれとは一変し、垂直に近い方向へ向かうことから、オーキシンが組織成長の方向制御の鍵を握るもう一つの因子であると推察されます。

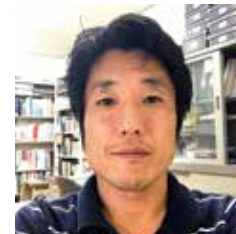
そこで私達は、*CUC*遺伝子の下流で*STM*とオーキシン関連遺伝子がどのように働き、どのように相互作用するかを調べることで、茎頂

分裂組織に特異的な水平方向の成長がどのように制御されているかを明らかにしようとしています。これまでにマイクロアレイで同定したオーキシン関連遺伝子のいくつか、実際に*CUC*遺伝子の下流にあることを明らかにしました。また、茎頂分裂組織が最初に形成される部位である胚頂端部において、*CUC*遺伝子が組織の水平方向の拡大を促進することや、正常なAuxin maximumの形成に必須であることもわかりました。

現在は*CUC*遺伝子がどのようにしてAuxin maximumの形成を制御するのかを重点的に調べています。それと並行して、*CUC*のもう一つの下流遺伝子である*STM*がオーキシンとどのような関係にあるのかについても調べていきたいと考えています。さらにはこれらの因子がシュートの幹細胞維持に対してどのような役割を持つのかを明らかにすることが、この研究の最終的な目標です。



植物の栄養繁殖をモデルとした再生と 幹細胞性の維持機構の解明



研究者代表

木村 成介

京都産業大学総合生命科学部 教授

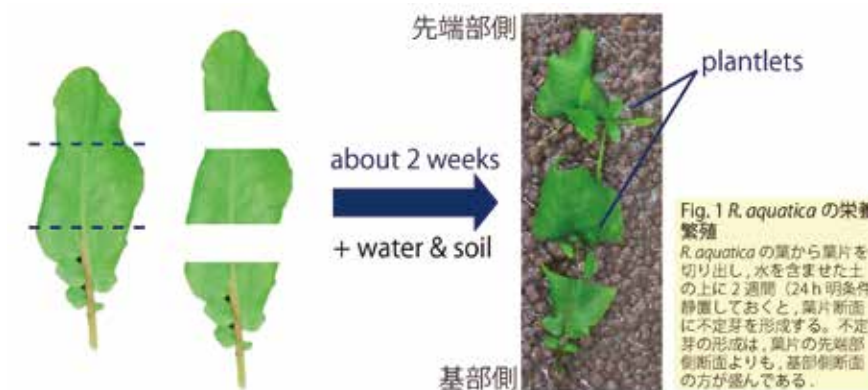
栄養繁殖は、植物が栄養器官から次世代を繁殖する無性生殖の一種です。自然界では多くの植物が栄養繁殖により繁殖しています。栄養繁殖は、農業など応用面からも重要であり、興味深い現象です。しかしながら、適切なモデルが存在しないため、特に種子植物の栄養繁殖についての分子レベルの研究はこれまでほとんど進められてきませんでした。

北米の湖畔に生育する水陸両生植物の*Rorippa aquatica*は、自然条件下では栄養繁殖により繁殖しています。この植物の花茎につく葉（茎生葉）の葉柄と花茎の境目には離層が形成されていて、水流により容易に茎生葉が離脱します。離脱した茎生葉は水流により散布されたあと、葉柄の部分から発根し、その後シュートが成長すること新個体になります。また、ロゼッタ葉であっても、葉が切断されると、葉片の根元側（基部側）の断面から新しい個体を再生することができます（Fig.）。この一連の過程には特別な条件は必要なく、水分状況さえ適切であれば、葉の切断に応答して再生します。

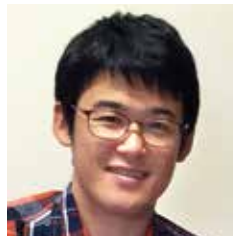
*R. aquatica*のように植物ホルモンの添加を必要とせずに自然に再生する植物では、葉などの分化した組織であっても一部の細胞が幹細胞性を維持しており、切断などの外的刺激に応答して幹細胞の増殖が再開することで植物体が再生すると考えられ、植物の多能性幹細胞の特性を理解する上で興味深い現象です。そこ

で私達は、*R. aquatica*をモデルとして、植物の栄養繁殖の研究を進めています。これまでの研究では、*R. aquatica*の葉の断片からの再生過程について、発生学的・形態学的な観察をおこない、葉の切断後すぐに維管束組織周辺の細胞分裂が活性化し、およそ6日後に根が形成され、10日ほどでシュートが形成されることなどを明らかにしてきました。

現在は、再生過程の経時的なトランスクリプトーム解析により、植物の再生や多能性幹細胞の維持に必要な遺伝子群を同定しようとしています。*R. aquatica*の再生は、切断した葉の基部側でのみおこるため、葉片の基部側と先端部側で発現が異なる遺伝子を同定したところ、植物の再生に関わる遺伝子群の発現が基部側のみで上昇することがわかりました。また、また、切断直後に葉片の基部側でオーキシン応答性の遺伝子の発現が変動していました。オーキシンや阻害剤の添加実験、オーキシンの定量実験の結果から、極性輸送によりオーキシンが葉の基部側に蓄積されることで、再生系の遺伝子群の発現が誘導されていることが明らかになりました。今後、トランスクリプトーム解析の結果の解析を進めるとともに、近縁種で再生をしない植物との比較解析をすることで、再生による栄養繁殖のメカニズムや進化過程について新たな知見を得たいと考えています。



イネの茎における節幹細胞の特徴づけと細胞未分化性消失機構の解明



研究者代表

津田 勝利

国立遺伝学研究所 助教

未分化性は、動植物を問わない幹細胞の重要な性質です。未分化性とは、すなわちオルガネラや細胞形態が未熟で特定の機能に特化しておらず、継続的な細胞分裂が可能な状態です。KNOXは、植物の茎頂や花などの分裂組織で細胞を未分化な状態に保つ転写因子で、その機能が失われると早期の細胞分化により幹細胞が失われることから、シュート幹細胞制御の鍵因子のひとつに数えられます。私たちのこれまでの研究で、KNOXとそのコファクターであるBLH転写因子が、イネ科植物の節間を生み出す介在分裂組織の維持にも不可欠であることがわかりました。そこで、イネの茎とKNOX・BLHの機能に焦点を当てた次の2つのテーマに取り組んでいます。

(1) イネ科植物の介在分裂組織の特徴づけと幹細胞マーカーの探索

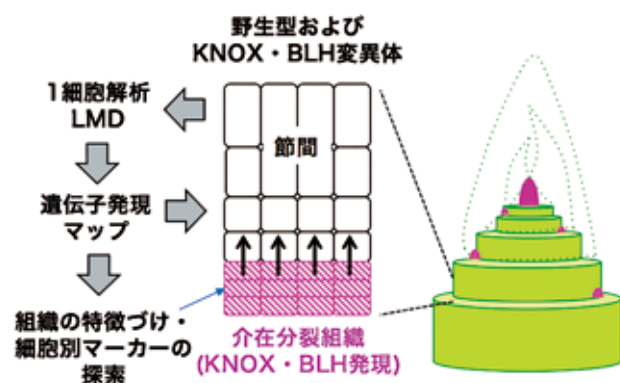
介在分裂組織はイネ科植物の節間基部に存在する細胞分裂帯で、タケに代表される劇的な節間伸長能力の基盤となる組織です。節間の伸長制御は穀物の倒伏耐性にも直結するため、育種学的にも重要です。このような重要性に関わらず、イネやトウモロコシを材料に1960年代以前に組織学的観察が行われたのを最後に、発生学的な研究はほとんどおこなわれておらず、植物の他の器官とくらべても分子レベルでの理解が遅れています。

KNOXとBLHは介在分裂組織で発現するのに対しそこから生み出された節間細胞では抑制されています。KNOX・BLH変異体では介在分裂組織が早期に節間細胞へと分化し消失することから、これらの転写因子は茎頂や花芽と同様に介在分裂組織でも細胞未分化性を維持する役割を果たしており、そこには未知の幹細胞が存在する可能性が考えられました。そこで本研究では、レーザーマイクロディセクションや1細胞解析などの組織・細胞単離技術を用いてトランスクリプトーム解析をおこない、発生中の節間において高い解像度の遺

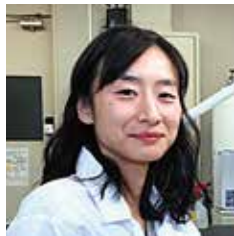
伝子発現マップを作成し、組織・細胞タイプ別マーカーの構築、介在分裂組織の特徴づけを行っていきます。さらにKNOX・BLHの変異体を比較解析に加えることで、介在分裂組織の維持に重要な遺伝子経路の探索や幹細胞の存在の検証を目指します。

(2) 節間分化にともなう細胞未分化性消失機構

未分化性の維持と並び、細胞分化に伴う未分化性の消失機構もまた幹細胞生物学の重要な課題の一つです。KNOX転写因子は茎頂や花などの分裂組織で発現していますが、器官分化に伴い発現が抑制されます。KNOXの抑制が破綻すると分化阻害による奇形を生じますが、どのように抑制が始まるのかは依然として不明です。私たちは、イネのKNOXが茎頂分裂組織では主に核に局在するのに対し、茎の分化に伴い核外に蓄積することを発見しました。培養細胞を用いた実験では、KNOXを積極的に核外輸送するためのメカニズムが見えてきています。本研究では、KNOXの核外移行を未分化性消失の重要なステップと位置づけ、そのメカニズム解明と幹細胞制御における役割を検証していきます。



幹細胞におけるゲノムの安定性と可塑性に関する研究



研究代表者

遠藤 真咲

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構生物機能利用研究部門
遺伝子利用基盤研究領域 主任研究員

遺伝子の変異は生物にとって不利になることが多いので、DNA損傷部位を正確に修復することは重要です。特に生長点の様に次世代に伝わる細胞で正確な修復が行われない場合、次世代植物を作れない、あるいは次世代の植物が生存競争で不利になる可能性が高くなります。その一方で、環境の変化に対応するには、適度に遺伝情報が異なる腋芽等の新生組織や後代を作出してゲノムの多様性を確保することが有効であるともいえます。本研究では、遺伝子変異の元となるDNA損傷に着目し、植物の生存戦略にとって重要な茎頂幹細胞のDNA損傷応答を詳細に解析することで、幹細胞性の維持機構および、遺伝的多様性につながるゲノムの可塑性を明らかにします。

DNA損傷はDNA複製時のエラーや生体内で発生する活性酸素など、内在性の要因によっても生じます。また、植物が光合成を行うためには光を浴びることが必須ですが、これは同時に紫外線を浴びることも意味しており、紫外線によるDNA損傷を避けて通ることはできません。DNA損傷のほとんどは素早く、正確に修復されますが、DNA損傷の数が多く修復が追いつかない場合や、遺伝情報の書き換えが植物にとって不利益となる細胞にDNA損傷が生じた場合は、細胞死が選択されることもあります。

茎頂幹細胞は新生組織を生み出す細胞であり、種子植物の場合は後代に遺伝情報が伝わる大事な細胞です。また、近年、生物の内在遺伝子をピンポイントで改変できる方法として注目されているゲノム編集では、変異を入れたい遺伝子を切断することでDNA損傷を引き起こし、その修復エラーを利用して変異を導入する方法が主流であるため、変異が入った植物体を効率よく作出するには、茎頂幹細胞にDNA損傷および修復エラーが生じる効率を上げる方法を見出すことも重要となってきます。

これまでも植物のDNA損傷応答に関する研究が行われてきましたが、そのほとんどは植物体全体、または根や葉といった組織に放射線や紫外線を照射したり、DNA損傷剤を処理し、植物全体または処理を施した組織を解析する方法であり、特定の細胞に限定してDNA損傷を誘導する研究は行われていませんでした。そこで私達は、シロイヌナズナを材料に、茎頂特異的かつ誘導的にDNA損傷を誘導できる系を構築することにしました。この系を利用して、茎頂幹細胞にDNA損傷が生じた場合、どのような修復機構が選択されるのか、細胞周期や細胞分裂への影響はあるのか、損傷が多い場合でも幹細胞として運命は維持されるのか、細胞死が生じる場合は周辺の細胞が新たに幹細胞化するのかなど、DNAレベルから細胞、組織レベルまで、詳細な解析を行う予定です。

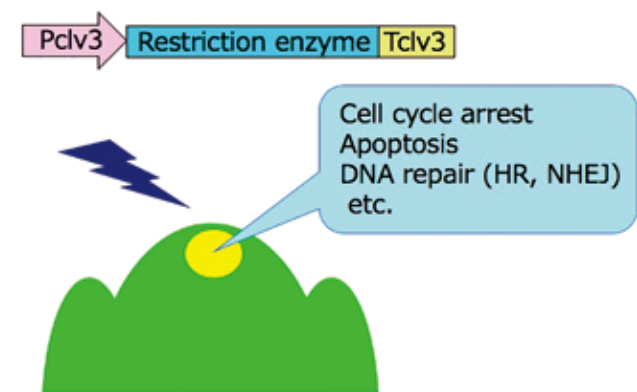


図. 茎頂特異的DNA損傷誘導システム
茎頂特異的発現を示すClv3 promoter、Clv3 terminatorを利用して制限酵素を発現させる。茎頂幹細胞にDNA損傷が生じることにより、細胞周期停止や細胞死、DNA損傷機構の活性化が生じるかを解析する。

Ethylene-Gibberellin Signaling Underlies Adaptation of Rice to Periodic Flooding

Takeshi Kuroha, Keisuke Nagai, Rico Gamuyao, Diane R. Wang, Tomoyuki Furuta, Masanari Nakamori, Takuya Kitaoka, Keita Adachi, Anzu Minami, Yoshinao Mori, Kiyoshi Mashiguchi, Yoshiya Seto, Shinjiro Yamaguchi, Mikiko Kojima, Hitoshi Sakakibara, Jianzhong Wu, Kaworu Ebana, Nobutaka Mitsuda, Masaru Ohme-Takagi, Shuichi Yanagisawa, Masanori Yamasaki, Ryusuke Yokoyama, Kazuhiko Nishitani, Toshihiro Mochizuki, Gen Tamiya, Susan R. McCouch, and **Motoyuki Ashikari** (2018) , *Science*, 361, 181-186, DOI: 10.1126/science.aat1577

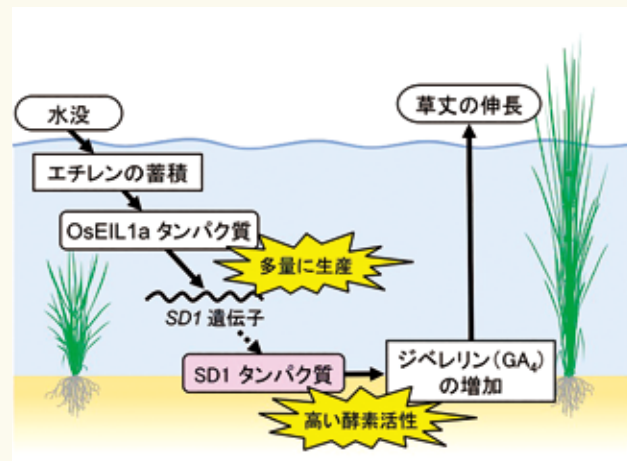
植物は、これまで様々な過酷な環境に適応する進化を遂げてきました。植物の生存に水は必須ですが、水没してしまうほどの大量の水は生存を脅かします。東南アジアでは、毎年雨期になると水かさが数メートルにもなる洪水が発生し、この過酷な環境が約4～5ヶ月続くこともあります。この過酷な環境では、ほとんどの植物は生きていけませんが、バングラデシュをはじめとしたアジアの洪水地帯で栽培される「浮きイネ」は、ユニークな進化を遂げてきました。浮きイネは、完全に水没してしまうような洪水が長期間続いても、急激に草丈（イネの身長）を伸ばして水面から葉を出し生き延びることができます。この伸長能力は非常に高く、時には草丈が数メートルに至るほどです。しかし、その詳細な仕組みや起源については明らかになっていませんでした。

そこで私たちは、遺伝学的手法を用いることにより、浮きイネの水没に応答した草丈の伸長に関わる鍵遺伝子として*SD1* (*SEMI DWARF1*) 遺伝子を発見しました。イネは水没すると、エチレンと呼ばれるガス状の植物ホルモンを発生し体内に蓄積します。続いて、OsEIL1aというタンパク質が蓄積し、これが*SD1* 遺伝子に働き掛けてSD1タンパク質を多量に生産させることがわかりました。SD1タンパク質は、植物の草丈を伸長させる機能を持つ植物ホルモンであるジベレリンを合成する酵素タンパク質です。また、一般的なイネもSD1タンパク質を保持していますが、浮きイネのSD1タンパク質の酵素活性は、一般的なイネのものよりも約250倍高いことも判明しました。さらに、一般的なイネが成長するときには主にGA₁と呼ばれるタイプのジベレリンを生産しますが、浮きイネのSD1タンパク質は、GA₁よりもGA₄と呼ばれるタイプのジベレリンを多く生産する能力を持つことが明らかになりました。GA₄はGA₁に比べてより強く草丈の伸長を誘導することも明らかになりました。以上のような巧妙なメカニズムにより、浮きイネは水没するとGA₄を効率良く生産し、草丈の急激な伸長を引き起こしていることが明らかになりました(図)。

一方、私たちは、浮きイネの*SD1* 遺伝子を手掛かりにして、様々なイネの遺伝子情報を比較することにより、浮きイネの起源にも迫りました。現在、私たちが栽培しているイネは、野生イネと

呼ばれるイネの祖先から約8,000年の年月をかけて栽培化されたと考えられています。私たちは、浮きイネの*SD1* 遺伝子が、南アジアや東南アジアに生息していた一部の野生イネにおいて生じた変異に由来することを明らかにしました。さらに、この変異を持つ浮きイネ*SD1* 遺伝子は、バングラデシュにおける浮きイネの栽培化に利用されたことも判明しました。

SD1 遺伝子は別名「緑の革命遺伝子」とも呼ばれ、この遺伝子の機能を喪失したイネ（半矮性イネ）は、ジベレリンの含量が低下することで草丈が低くなり、台風などの強風や豪雨でも倒れにくくなります（背の高いイネは収穫時に風雨に遭うと倒伏します）。1960年代以降、この機能喪失型の*SD1* 遺伝子 (*sd1*) を保持した系統が数多く作出されました。これらの系統は化学肥料と共に利用され、倒伏せず高収量であるため、アジアで広く利用されました（緑の革命）。現在でもアジアで育成される多くのイネ品種が*sd1* を保持していることから、この遺伝子が人類にとってどれだけ重要かがわかります。一方、浮きイネは*SD1* 遺伝子の機能を逆に強化させることで、洪水時に急激に草丈を伸ばすことができるようになったと言えます。人類は、同じ遺伝子の異なる変異を用いて、草丈を低くする方向だけでなく、逆に高くする方向への育種にも利用していたことが明らかになりました。



Systemic transport of trans-zeatin and its precursor have differing roles in shoots of Arabidopsis

Asami Osugi, Mikiko Kojima, Yumiko Takebayashi, Nanae Ueda, Takatoshi Kiba, **Hitoshi Sakakibara** (2017) , *Nature Plants*, 3, 17112, DOI: 10.1038/nplants.112.

胚発生の段階で器官や肢体構成が決定される動物とは異なり、植物は胚発生後も体じゅうに幹細胞を含む未分化細胞群をもち、環境変化に応答しながら一生を通じて新たな器官を形成し続けます。また、その形態を生育環境に最適化するために器官間で情報のやり取りをしています。この器官間情報分子の1つがサイトカイニン (CK) です。器官間の情報伝達における根から地上部へのCK輸送については、前駆体 (tZR) として道管内を移動し、作用する場所でLOGによって活性型 (tZ) に変換されて作用すると考えられてきました。この道管を介した根からのCK輸送は、地上部器官の成長促進に重要な役割を担っていることはわかっていましたが、葉の大きさや枚数など、植物の複雑な形質を巧妙に調節するしくみについてはほとんどわかっていませんでした。

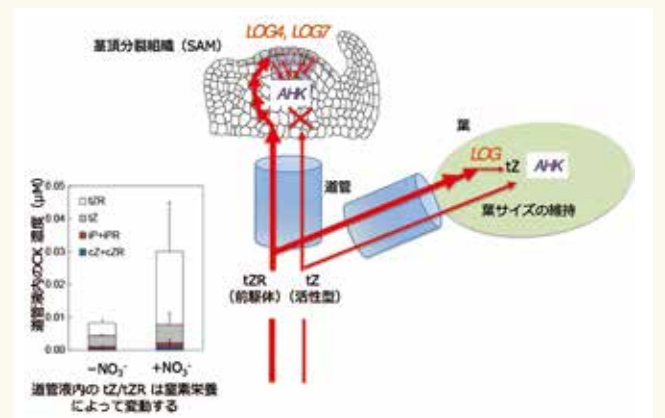
私たちは道管液内のCKを詳細に解析したところ、大部分を占めるtZRの他にもtZが微量に含まれることを見出しました。つまり道管を介して前駆体と活性型の両方が輸送されていることがわかりました。

つぎに、2種類の形態で輸送される生物学的な意味について、CK合成能が不全になったシロイヌナズナの変異体 (*iptT*)、活性化段階のみが不全になった変異体 (*logS*) と野生型 (*WT*) の接ぎ木を行い、表現系の解析を行いました。*iptT*や*logS*では、ともに成長が著しく阻害され矮化し、葉間期が長くなる表現型を示し、茎頂分裂組織 (SAM) のサイズが小さくなります。一方、*iptT*/*WT* (穂木/台木) では*iptT*で見られた成長阻害の表現型が完全に回復していたのに対し、*logS*/*WT*では葉のサイズは回復していたものの、葉間期は回復しませんでした。より詳細にSAMを観察してみると、*iptT*/*WT*ではそのサイズが回復していたのに対し、*logS*/*WT*では回復していませんでした。つまりこの結果は、

根から輸送されたCKによる葉のサイズのコントロールにはLOGの働きは必須ではなく、道管液中のtZのみで十分であることを示しています。一方でSAM活性に関連した形質、つまり葉間期の調節はLOGの機能に依存していることから道管液中のtZRの輸送が必要であることを示しています。

さらに、道管液中のtZとtZR濃度の窒素栄養状態による影響を調べたところ、窒素栄養を添加することによって、tZに対しtZRの濃度が顕著に増加しました。つまり、窒素栄養が十分な場合には葉を新しく作り出す速度を促進していると考えられます。

これまでCKの作用が、量の変化だけでなく、側鎖の修飾による「質」的な変化によって制御されることを明らかにしてきましたが、同じ側鎖構造をもつ分子でも、輸送時の形態で異なる作用を示すことがわかりました。今回の研究成果は窒素栄養などの外環境の変化によって地上部の成長促進を巧みに調節するしくみの一端を明らかにしたものとと言えます。



MUTE orchestrates cell-state switch and the single symmetric division to create stomata

Soon-Ki Han, Xingyun Qi, Kei Sugihara, Jonathan H. Dang, Takaho A. Endo, Kristin L. Miller, Eundeok Kim, Takashi Miura, and **Keiko U. Torii**, *Developmental Cell* 45, 303-315.e5

植物の気孔は、陸上植物の表皮に無数に存在する通気口で、光合成のためのガス交換や水分の制御を担っています。気孔の存在は、植物の生育と生存に必須であるとともに、地球環境レベルでの炭素サイクルや水蒸気循環にインパクトを与えています。気孔が環境に応じて開閉し機能するためには、2つ（一対）の孔辺細胞が穴を囲んだ構造が必須であり、実際、どのような植物種でもこの気孔構造がみられます。気孔は、元になる細胞が一回だけ対称に最終分裂することによってできますが、どのようにして細胞分裂が厳密に一回だけ起こるのかはわかっていませんでした。

私たち研究グループは、植物学、バイオインフォマティクス、および数理モデルを組み合わせることにより、陸上植物の気孔の形を作る細胞の分裂が対称的に一回のみ起きるメカニズムの一端を解明しました。まず、気孔の分化を指令するマスター転写因子であるミュート（MUTE）の直接標的遺伝子の網羅的解析を行いました。その結果、MUTEは、気孔の対称分裂に必要な細胞周期因子を誘導すると同時に、これら細胞周期因子を直接抑制する転写因子を直接誘導することにより、気孔の分化過程において細胞分裂が一回だけ厳密に起こるよう統御していることがわかりました。

研究グループは、さらに、数理モデルを用いて、この制御ネットワークに異常が生じた場合に起こる気孔の発生異常を予測し、実際に実験で検証しました。このMUTEによる統御様式はフィードフォワード回路と呼ばれ、動物や酵母、大腸菌などの迅速な遺伝子発現制御に広くみられます。そのため、本研究は、動植物、原核・真核生物を問わず形作りの基盤原理に迫るものであり、気孔の発生制御を介して作物の改良にも貢献が期待されます。

本研究では、簡潔な数理モデルによって、気孔を形成するために必要不可欠な、たった1回の細胞分裂を起こす仕組みという謎に大きく迫ることができました。さらに、これまで全く謎とされていた、気孔の発生における緻密な細胞分裂制御を、実験生物学、バイオインフォマティクス、そして数理生物学の合わせ技で明らかにするという、異分野融合型の研究の威力を見せるものとなりました。



図：Dev Cell誌のカバー
マスター因子MUTE(少女)が指揮することにより、細胞分裂が一回だけ起こり、一対の孔辺細胞が穴を囲んだ気孔が完成する(中)。MUTEの指揮が乱れることにより、分裂が過剰に起きたり(左) 起こらなかったり(右) し、どちらも正常な気孔として働くことができない。

Cytoplasmic MTOCs control spindle orientation for asymmetric cell division in plants

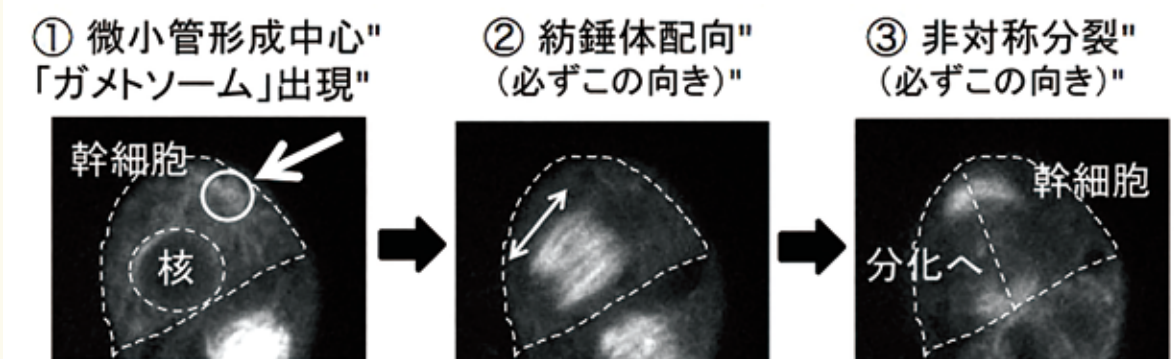
Ken Kosetsu, Takashi Murata, Moé Yamada, Momoko Nishina, Joanna Boruc, Mitsuyasu Hasebe, Daniël Van Damme, **Gohta Goshima** (2017), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 114, 42, E8847 - E8854, DOI: 10.1073/pnas.1713925114.

本研究では、基礎生物学研究所・生物進化研究部門の長谷部光泰教授・村田隆准教授、及びベルギー・ Gent大学と共同で、植物の発生や形態形成に決定的に重要な役割を果たす細胞内の高次構造を発見しました。

動植物の発生過程では、さまざまな種類の細胞を作り出すために非対称な細胞分裂が頻繁に起こります。動物細胞では130年前に「中心体（セントロソーム）」と呼ばれる構造体が発見され、これまでに、中心体が分裂の非対称性を保障することが証明されています。ところが、植物は進化の過程で中心体を失ったため、どのように細胞分裂の対称性・非対称性が制御されているかは謎でした。今回の研究では、ヒメツリガネゴケの幹細胞を使って、動物の中心体に相当する構造を発見し、これを「ガメトソーム」と命名しました。

ガメトソームを人為的に破壊すると、幹細胞に特徴的な非対称分裂が認められなくなりました。一方、種子植物にはガメトソームと類似の構造体は報告されていません。ところが、興味深いことに、私たちはタバコBY-2培養細胞において、「polar cap」と呼ばれる核膜に沿って生成される微小管の集まりが、ガメトソームと同様の機能を果たしていることを証明しました。

植物では多能性の幹細胞が動物よりもずっと長い期間維持されていることが知られていますが、植物幹細胞はガメトソームあるいはpolar capの場所を操ることで幹細胞性を維持しているのかもしれない。



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

Multiple kinesin-14 family members drive microtubule minus end-directed transport in plant cells

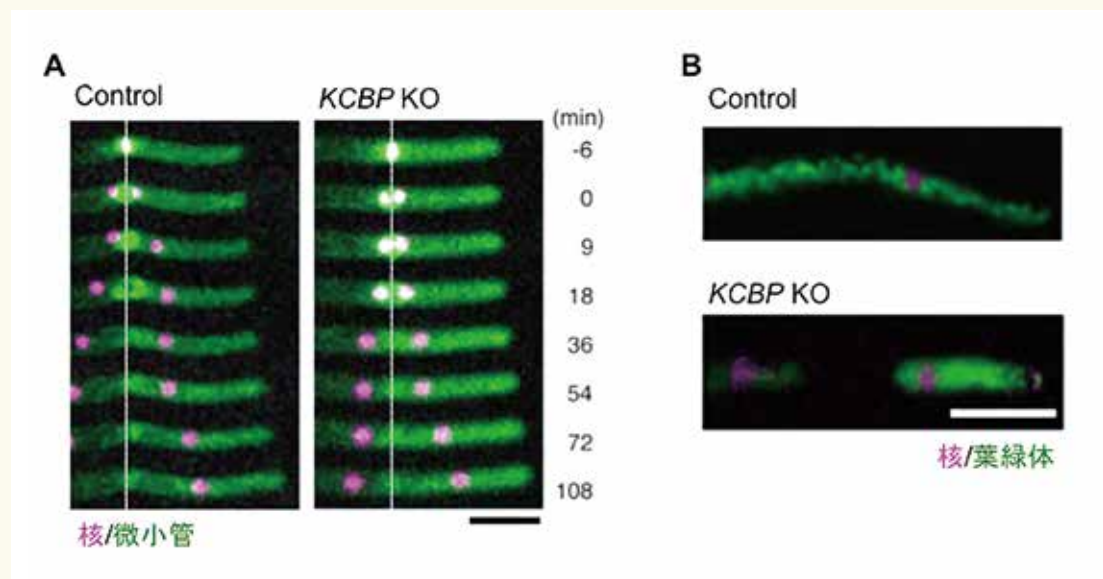
Moé Yamada, Yohko Tanaka-Takiguchi, Masahito Hayashi, Momoko Nishina, **Gohta Goshima** (2017) , *J. Cell Biol.*, 216, 6, 1705 - 1714, 2017, DOI: 10.1083/jcb.10065.

本研究では、名古屋大学の同僚と共同で、植物で独自に進化したタンパク質が細胞核などのオルガネラ輸送を担うことを発見しました。

細胞には様々な物質をそれぞれの適切な位置へ配置するための輸送機構が備わっています。その主要機構の一つが微小管と呼ばれる「レール」と微小管上を「走る」モータータンパク質による輸送です。動物細胞では「キネシン」と「ダイニン」と呼ばれる2種類のモータータンパク質（「列車」）が微小管上をそれぞれ逆方向に走行することで、付随した積荷が任意の方向へと運ばれます。しかし、陸上植物は進化の過程でダイニンを失ったため、どの様にして輸送が行われるのかは謎でした。今回の研究では、ヒメツリガネゴケの幹細胞を使った解析により、KCBPと呼

ばれる植物に特殊なキネシンが細胞分裂直後の細胞核や細胞質内の葉緑体を輸送していることを見出しました。KCBPを欠失すると、普段は分裂後の細胞の中央にすばやく移動する核が、分裂面近くに長時間とどまったままになりました。核の位置は将来の分裂面に影響を与えるため、KCBPは幹細胞の分裂面の位置制御に関わっている可能性があります。

動物ではこれらの過程でダイニンの関与が示されており、KCBPは「植物のダイニン」とも呼べるタンパク質であることが示唆されました。今回の発見は、陸上植物における物質輸送機構の進化だけでなく、植物幹細胞の分裂面制御機構を紐解く手がかりになることが期待されます。



図：輸送モーターであるKCBPが欠損したことにより核と葉緑体の運搬に異常をきたした細胞

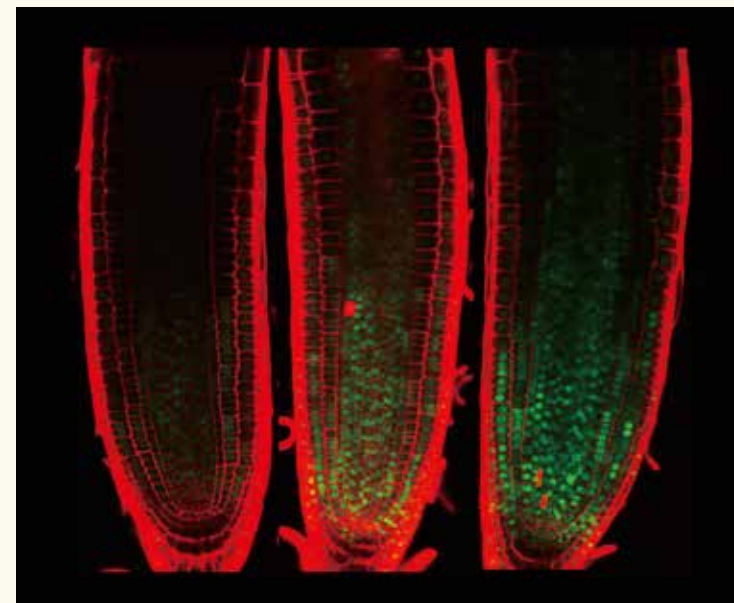
Arabidopsis R1R2R3-Myb proteins are essential for inhibiting cell division in response to DNA damage

Poyu Chen, Hirotomo Takatsuka, Naoki Takahashi, Rie Kurata, Yoichiro Fukao, Kosuke Kobayashi, Masaki Ito and **Masaaki Umeda** (2017) , *Nature Commun.*, 8, 635, DOI: 10.1038/s41467-017-00676-4

DNAが傷つくと、ゲノムの恒常性を維持するためにDNA修復系が活性化されますが、修復のための時間稼ぎをするために、生物は細胞周期を遅延または停止させる仕組みをもっています。これはDNA損傷チェックポイントと呼ばれており、動物では細胞のガン化を防ぐ機構としてよく研究されています。植物でも同様な制御系が存在しますが、以前の私達の研究で、植物細胞がDNA損傷を受けるとなぜか細胞周期がG2期で停止することがわかっていました。G2期で止まった細胞は、①DNA修復後に再び細胞分裂を開始する、②M期をスキップしてS期に移行し、DNA倍加を始める、③細胞死を起こす、のいずれかの道を辿ります。通常の分裂細胞は①または②のような振る舞いをしますが、植物に特徴的なのは、③の細胞死誘導が幹細胞特異的に起こるという点です。いずれにしても、DNA損傷に応答した細胞周期のG2期停止は細胞タイプにより異なる現象を引き起こしますが、そもそものようなメカニ

ズムでG2期停止が制御されているかは不明のままでした。

私達は、シロイヌナズナにおいてR1R2R3型Myb転写因子(MYB3R)がDNA損傷に応答したG2期停止に重要な役割をもつことを明らかにしました。MYB3Rには転写活性化型と抑制型の二種類が存在しますが、抑制型(Rep-MYB3R)の方がG2/M期特異的遺伝子群の発現を抑えることにより、G2期停止を引き起こすことを見出しました。また、DNA損傷がないとRep-MYB3Rタンパク質は積極的に分解されますが、DNA損傷を受けるとサイクリン依存性キナーゼの活性低下に伴い、Rep-MYB3Rタンパク質が安定化する様子も観察されました(図)。Rep-MYB3Rは幹細胞の細胞死誘導にも必要不可欠であることがわかったので、DNA損傷により変異が入った幹細胞を除去し、そのゲノム恒常性を維持する上でも重要な役割を担っていると考えられます。



図：DNA損傷に応答したRep-MYB3Rタンパク質の蓄積
DNA二本鎖切断を誘導するゼオシンで処理すると、時間とともに（左から右）、GFPを融合させたRep-MYB3Rタンパク質が根端で蓄積する様子が観察されます。

SUPERMAN regulates floral whorl boundaries through control of auxin biosynthesis

Yifeng Xu; Nathanaël Prunet; Eng -Seng Gan; Yanbin Wang; Darragh Stewart; Darragh Stewart; Jiangbo Huang; Nobutoshi Yamaguchi; Yoshitaka Tatsumi; Mikiko Kojima; Takatoshi Kiba; Hitoshi Sakakibara; Thomas P Jack; Elliot M Meyerowitz; **Toshiro Ito** (2018) , *EMBO J.*, **e97499**, DOI: 10.15252/embj.201797499.

私たちのグループは、植物の花において、雄しべと雌しべの境界領域ではたらく「境界遺伝子」が植物ホルモンのオーキシンを制御することで、雄しべの数の決定および花幹細胞の増殖抑制にはたらくという新たなメカニズムを発見しました。このとき、境界領域でオーキシンの合成量が抑えられることで雄しべの数を一定に保ち、旺盛な増殖能力を持つ花の幹細胞の増殖を抑える役割を果たすことがわかりました。

植物のもつ花の幹細胞の高い増殖能を抑えるためには、複数の遺伝子が協調してはたらくと考えられます。その中の1つとして、遺伝子が壊れることで雄しべの数が増えるSUPERMAN遺伝子があります。SUPERMAN(SUP)遺伝子は花発生の初期に雄しべと雌しべの原基の境界領域ではたらく「境界遺伝子」であり、Zinc Finger型の転写因子をコードしているということは、今から20年以上前に明らかにされていました。しかし、実際にSUPタンパク質が雄しべの数を決定する仕組みはわかっていませんでした。

私たちは、SUPタンパク質は、雄しべと雌しべの境界領域におい

てオーキシンの合成酵素であるYUCCA1/4(YUC1/4)というタンパク質の遺伝子に対して発現を抑制することを見いだしました。

実際の実験としては、まず、*sup*突然変異体で幹細胞マーカーを発現する細胞数が増えており、幹細胞の異常増殖が雄しべの数の増加と関連していることを示しました。さらに、SUP遺伝子の誘導系を用いた発現プロファイリングにより、オーキシン関連遺伝子の発現が変動しており、実際に*sup*突然変異体でオーキシンマーカーの発現が上昇していることを示しました。次にオーキシンシグナルを阻害する試薬を外から与えることで*sup*突然変異体での雄しべの数の異常増加を抑制したり、オーキシン量を異所的に増やすことで*sup*突然変異体の表現型を再現したりできることを示しました。さらに、*sup*突然変異体での幹細胞の増殖抑制は、増えすぎたYUC1/4の活性を壊すことによって元に戻ることも確認しました(図)。さらに、SUPタンパク質がYUC1/4遺伝子座に直接結合しており、ポリコムタンパク質であるCURLY LEAF (CLF)と直接相互作用して、抑制的ヒストン修飾を導入することがわかりました。

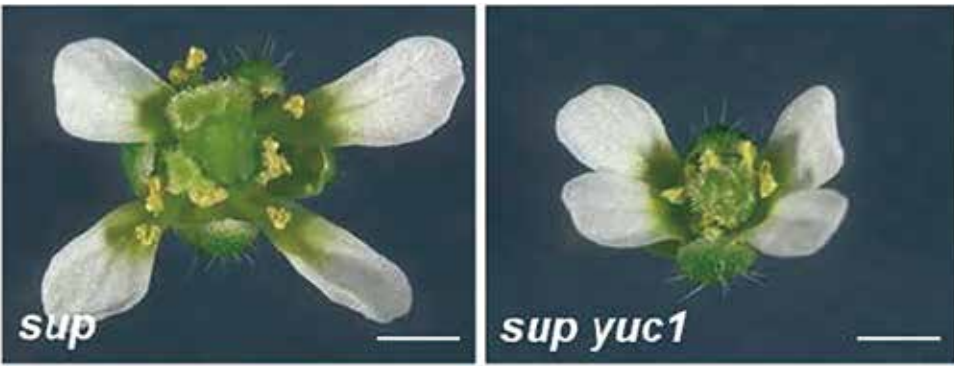


図. *superman(sup)*突然変異体の花(左)と*yucca1(yuc1)*突然変異体との二重突然変異体によって、雄しべの異常増加が元に戻った花(右)

2018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
8月1日	仙台第二高校での模擬授業	高校生	「植物細胞はどうやって運命を決めていくのか」と題した模擬授業と、研究室見学ツアー、最新研究機器の紹介。	東京大学理学部2号館	近藤 侑貴
8月6日	北海道大学オープンキャンパス	高校生	植物研究におけるコケ植物の魅力の紹介と、キャンパス内で採集したコケの顕微鏡を用いた種の同定実験など。	北海道大学札幌キャンパス(理学部5号館)	藤田 知道
8月10日	TOKYO TECH OPEN CAMPUS	高校生一般	植物や動物の細胞内の様子を可視化するセンサーの紹介と、蛍光タンパク質などの観察。	東京工業大学大岡山キャンパス	北口 哲也
9月1日	理化学研究所横浜キャンパス一般公開	一般	植物や昆虫、微生物など生物のミクロの世界を様々な顕微鏡を使って観察。	理化学研究所横浜キャンパス	豊岡 公徳 林 誠
12月15日	中学生への体験授業「ぶらりがく for you」	中学生	百花繚乱 “一様で多様な植物の形づくり”と題した講義。顕微鏡を用いた花やイネなどの観察と発表。	東北大学青葉山サイエンスホール	経塚 淳子

写真を掲載した上記5件以外に40件のアウトリーチ活動がありました(2018年12月現在)。



近藤侑貴先生による仙台第二高生への模擬授業



北海道大学オープンキャンパス(藤田知道先生)



TOKYO TECH OPEN CAMPUS(北口哲也先生)



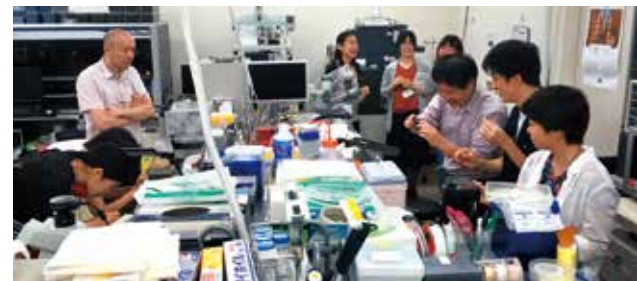
理研横浜一般公開(豊岡公徳先生)



中学生への体験授業「ぶらりがく for you」(経塚淳子先生)

第1回PSAC技術講習会：蛍光イメージング

2018年8月23-24日に理化学研究所 横浜キャンパス（横浜市鶴見区）において2日間のイメージング技術講習会を行いました。学生、ポスドク、教員など13名が参加し、当領域計画班で蛍光イメージングに長い経験を持つ班員3名が講師を務め、また、ライカマイクロシステムズ社の全面サポートを受け、講義と実習を行いました。蛍光イメージング技術を中心に、蛍光観察法の基本、共焦点レーザー顕微鏡の基礎講義、透明化法などの座学と、蛍光免疫染色法および蛍光色素染色法の実習、共焦点レーザー顕微鏡、蛍光実体顕微鏡等の実機を用いた蛍光タンパク質発現させた植物体の蛍光ライブイメージングを行いました。受講者、講師ともに深く学ぶことができ、懇親会や休憩時間での情報交換も活発に行われ、充実した講習会となりました。



第2回若手ワークショップ

公募班が加わって初めての開催となった第2回若手ワークショップは、2018年10月4日（木曜日）から6日（土曜日）までの3日間にわたって、香川県の小豆島ふるさと村において行われました。総勢78名が参加し、計画班と公募班の大学院生・研究員・助教に加え、学部生らも参加し、自己紹介を含めた各自の研究発表を行いました。博士後期課程の大学院生とポスドク・助教クラスの若手研究者が座長をつとめ、活発な質疑応答が行われ



ました。また特別企画として計画班員の佐竹暁子さん、林誠さんのキャリアパスに関する講演も行われ、夜の懇談会も学部生から研究室主宰者まで入り乱れ、大いに議論が盛り上がりました。大型で強い台風25号が日本列島に接近しつつある中、最悪の場合、途中で中止する可能性も考えながらのスタートでしたが、後半では予期しなかった晴天にも恵まれ、小豆島の豊かな自然と文化を体験することもでき、有意義な交流の機会となりました。



グループミーティング

本新学術領域研究では領域内の研究交流、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開催しています。ここでは、領域内の少数のグループで若手を交えた研究討論をおこないます。2018年度は公募班が新たに加わったこともあり、昨年度と比べて倍以上の31件がこれまでに開催されました。写真1は鳥居班と木村班によるグループミーティングの様子です。また今年度は新たな試みとして、計画班が動物分野の研究者と議論する機会を設けました。写真2は梅田班が群馬大の柴田淳史先生とミーティングをした時の集合写真です。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ています。



写真2



写真1



第4回幹細胞研究会

11月7日に愛知県岡崎市の自然科学研究機構 岡崎コンファレンスセンターにて第4回幹細胞研究会を開催しました。この研究会は幹細胞の基盤原理と特異性を議論する会として2015年より各地で毎年開催されています。植物の旺盛な器官再生能力は幹細胞に支えられていると考えられますが、その正体は不明です。また、動物ではES細胞や組織幹細胞が多様な形態で維持されていることがわかってきています。幹細胞研究会では動植物の垣根を超えて幹細胞システムの理解を深める議論の場を提供してきました。今回も8名の演者の方をお迎えし、領域内外から66名の参

加がありました（うち、動物細胞を研究対象とされる方18名）。動物細胞の研究者の方からは再生や臨床研究に関わるお話も伺うことができ、最後まで活発な議論が交わされました。



overseas dispath report

ウッズホールMBL (Marine Biological Laboratory) での夏の共同研究

五島剛太（名古屋大学大学院理学研究科）

ボストンから車で2時間ほど走ったところに、ケイブコッドと呼ばれる地域があります。ボストンより若干涼しいことから、夏のバケーションスポットとしてたいへん人気があります。ウッズホールという小さな町はケイブコッドの一角にあり、その中心に海洋生物学研究所 (Marine Biological Laboratory: 略してMBL) があります。

MBLでは夏季を中心に、世界各地から学生を集めて実習コースが開かれています。Physiology コースなど、120年以上続く伝統のコースもあります。のちにDNAの半保存的複製の発見で有名になるメセルソンとスタールは、このコースで出会ったそうです（当時のコースディレクターはJDワトソン）。また細胞周期の中心制御因子・サイクリンや、いま細胞生物学で最もホットなトピックのひとつである細胞内構造体の相分離現象などは、コースの中で発見されました。現在でも各コースでは著名な研究者による実習に加え、日替わりで一流の研究者が招聘され、公開レクチャーが催されています。

夏のMBLのもうひとつの特徴は、自分の大学での講義等の仕事から解放された「夏休み」の研究者がこれまた世界中から集まって、実験室をレンタルして、共同研究を活発に行うことです。宿泊施設や食事場所は研究所内にありますので、文字通り

一日中研究に没頭できます。ノーベル賞受賞者をはじめ多くの著名な研究者が嬉々としてピペットマンを握っているのは、MBLならではの光景と言えるでしょう。

歴史的に日本とは縁が深い研究所です。先日ご逝去された下村脩さんはMBLで長くラボを運営されていました。偏光顕微鏡を開発し細胞分裂期紡錘体の存在を証明した井上信也さんは95歳を超えられた今も自分のラボに時々来られています。北大から移られた谷知己さんはMBLの現役PIです。日本からは馬淵一誠さん（東大名誉教授）や進藤麻子さん（名大：EmbryologyコースのTAとして）らが毎年のようにMBLに来られています。私は米国ポスドク時代の2004年から4年間はPhysiologyコースのTAとして、名大に着任してからは夏期滞在研究者として、これまで12度の夏をMBLで過ごす、なかなかの「Woods Holer」です（これを認めてくれている名大には感謝です）。

昨年は、本領域の国際活動支援を受け、かなり大がかりなMBL滞在となりました。

本領域の国際連携研究者のMagdalena Bezanillaさん（Dartmouth College）、生物物理のLiam Holtさん（NYU）、酵母研究者の

Fred Changさん（UCSF）と実験室1室をシェアし、共同研究を行いました。名大から連れてきた3名を含めて、研究に携わった学生・ポスドクは10名を超えました。非常にありがたいことに、Nikon-USA社がフルスペックの全反射顕微鏡を6週間無償で貸してくださり、文字通り24時間フル稼働で細胞イメージングに取り組むことができました。私たちはヒメツリガネゴケ幹細胞の非対称分裂機構や細胞質の物理化学的性質の理解を目標においた実験を行いました。思わず叫び声を出してしまうほどの興奮する結果も得られ、全体としてたいへん満足のいく滞在となりました。これらの予備的データを論文にまで持っていくのはまだまだ先のことと思いますが、「普段と違ったタイプの実験をやってみてなんらかの予備的データを得る」という私のMBLでのいつもの目標は十分に達成できたと思っています。領域のサポートに感謝いたします。



MBL

最後に、典型的な MBL での 1 日を紹介します。

● 月曜から土曜

8:00 朝食

9:00 Physiology コースの
レクチャー聴講

10:30 実験・Discussion

12:00 昼食

13:00 実験・Discussion
(午後の休憩時に近くのビーチに行くこともあります。観光客に混じって研究者もいますので、研究 Discussion をする場にもなっています)

18:00 夕食

(日没時には釣り好きの研究者に誘われて MBL 前の海で投げ釣りを楽しんだことも。)

19:00 実験・Discussion

24:00 就寝

● 日曜

基本的にオフです。町のレストランで名物ロブスターを食べたり、人気の観光地・Martha's Vineyard 島に船で渡って、サイクリングを楽しんだりすることもできます。

Physiology コースを手伝っていたころ、「Work hard, play hard!」は MBL の夏の精神だと言われましたので、今もそれを踏襲しています。遊んでいる最中も、なにか面白い研究テーマはないかなと頭のどこかでは考えている、といった感じです。

このように私は完全に MBL 中毒になっていますので、研究資金の続く限りはこれからも毎年夏には戻ってくるつもりです。夏の共同研究に興味を持たれた方、いつかご一緒にしましょう。



ラボシェア



学生たちの共同実験



実験をする五島



Magdalena Bezanilla 研と五島研のメンバー



休日の楽しみ方

国際シンポジウムのお知らせ

東北大学知の創出センターとの共催で、国際シンポジウム「Principles of pluripotent stem cells underlying plant vitality」を開催します。3題の基調講演、海外、領域外からの招待講演者および領域研究者の講演、ポスター発表を行います。

5月の仙台は新緑が美しい季節です。多くの皆様の参加をお待ちしています。

■ 日時

2019年5月11日(土)午後～14日(火)午後

■ 場所

東北大学生命科学研究科大講義室 さくらホール

〒980-8577 宮城県仙台市青葉区片平2丁目1-1

■ オーガナイザー

経塚淳子 (東北大学) 梅田正明 (NAIST) David Jackson (CSHL) 山口信次郎 (京都大学)

■ ホームページ

<https://www.tfc.tohoku.ac.jp/program/2155.html>

■ セッション

Session 1: Plant stem cells and meristems

Session 2: Organ regeneration and stem cells in animals

Session 3: Stem cells and lineage specification

Session 4: Intracellular Dynamics in Stem Cells

Session 5: Hormonal control of plant stem cells

Session 6: Evolutionary genomics and stem cells

■ キーノートスピーカー

Keiko Torii (University of Washington) Elliot Meyerowitz (Caltech) Kiyokazu Agata (NIBB)

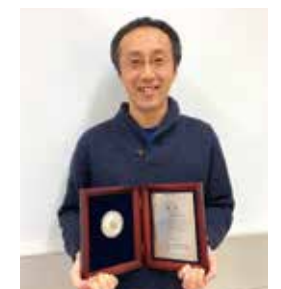
■ 領域外からの招待講演者

Magdalena Bezanilla (University of Massachusetts)、Toshinori Hayashi (Tottori University)、Mitsuyasu Hasebe (NIBB)、David Jackson (CSHL)、Ari Pekka Mähönen (University of Helsinki)、Takashi Makino (Tohoku University)、Kyoko Miura (Kumamoto University)、Naomi Nakayama (The University of Edinburgh)、Magnus Nordborg (Gregore Mendel Institute)、Carlos Filipe Pereira (Lund University)、Venu Gonehal (UCRS)、Mitunori Saitou (Kyoto University)、Ross Sozzani (North Carolina State University)、Keiko Sugimoto (RIKEN CSRS)、Atsushi Suzuki (Kyusyu University)、Koji Tamura (Tohoku University)、Takuya Suzaki (Tsukuba University)、Minako Ueda (Nagoya University)、Lieven De Veylder (Ghent University)、Xian Sheng Zhang (Shandong Agricultural University)、Yunde Zhao (UCSD)

🌾 A01班・五島が第15回日本学術振興会賞を受賞しました 🌾

本新学術領域の A01 班・五島先生が第 15 回日本学術振興会賞を受賞されました。日本学術振興会賞は、日本の学術研究の将来のリーダーと期待される優秀な若手研究者に贈られる賞です。本領域にとって大変喜ばしいニュースであるとともに、今後の五島先生の益々の研究のご発展をお祈り申し上げます。

この度のご受賞、誠にありがとうございます。



2018～2019年度の予定

2018年度	3月4～5日	第3回領域会議（於 名古屋大学アジア法交流館アジアコミュニティフォーラム）
2019年度	5月11～14日	国際シンポジウム（於 東北大学片平キャンパス） 第3回若手の会（開催時期場所未定） 第5回幹細胞研究会（開催時期場所未定） 第4回領域会議（3月に開催予定、担当：林）



編集後記

梅田新学術領域研究がスタートし、2年が経とうとしています。今年度は、18件の公募研究が加わり、ますます新学術領域研究らしい活動が行われました。若手の会や技術講習会など参加人数も多い企画の運営に携わった方々は、ご苦勞もあったかと思いますが、領域内での交流や共同研究への発展など様々な波及効果を生み出したに違いありません。

さて、本年度は生命科学分野で大変喜ばしい出来事がありました。一昨年の大隅良典先生に続き、今年度は本庶佑先生がノーベル生理学・医学賞を受賞されました。受賞後のコメントでは、大隅先生、本庶先生ともに、基礎科学の重要性を説いておられました。我々を含む生命科学分野の研究者は大いに勇気付けられたのではないのでしょうか。一方で、主に医療分野になりますが、ノーベル賞の対象となった基礎科学の成果が近年社会に大きなインパクトを与える技術へと発展するところを目の当たりにし、私自身の研究と社会とのつながりを考えさせられる部分もありました。もちろん、何でもかんでも技術的なイノベーションに繋げる必要はありませんが、少なくとも基礎研究の成果を社会に向けて発信すること、その面白さを社会（特に若い人たち）にきちんと伝えることは必要と思われます。今回のニュースレターにはPSCフロントラインと称し、梅田新学術の面白い研究成果をいくつか紹介しています。この冊子を手にされた方、楽しんでいただけたでしょうか。発信の一助になればと思っています。