

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

03

2020

April



742720-2  
2020 Jan

# PSC

NEWS LETTER Plant Stem Cells

2020 April 03



## Contents

● 巻頭言	01
● 計画・公募研究の成果	
A01: 計画研究班	03
A02: 計画研究班	10
A01: 公募研究班	18
A02: 公募研究班	26
● PSCフロントライン	36
● 2019年度アウトリーチ活動	40
● 2019年度活動報告	42
● overseas dispatch report	44
● information	44
● 編集後記	裏表紙

## Foreword 巻頭言

2019年度、私達にとって最大の課題は中間評価でした。すでに公表されていますが、幸い本領域はA+の評価を頂くことができました。今回、中間評価の対象となったのは20領域でしたが、その中でA+評価だったのは私達の領域だけでしたので、誇れる成果かと思えます。領域内の研究者はもちろんのこと、領域外の研究者の方々にもたいへん協力して頂き、ここまで領域研究を発展させることができました。この場を借りて、厚くお礼申し上げます。どうもありがとうございました。

中間評価では、領域研究の進展の他、若手育成、国際連携、アウトリーチ活動が高く評価されました。また、恥ずかしながら、私のリーダーシップも評価して頂きました。本領域は採択時に、「領域全体を突き動かすような作業仮説を提起してほしい」という宿題を頂いていましたので、初年度から計画班員を中心に、どのようなテーマが領域全体で取り組める作業仮説になり得るかを真剣に議論してきました。もちろん一朝一夕に答えが出るものではないので、二年にわたって議論を重ね、公募班の研究成果も参考にしながら、ようやく折り返し点に来て答えが見えてきたところです。これが中間評価では「研究領域全体の方向性が明確化されている」ということで、領域代表のリーダーシップとして評価されたのですが、これまでの経緯を考えると、多くの計画・公募班員の助けがなければ答えが出なかったのは自明なので、領域全体で頂いた高評価だと理解しています。

もう一つ高い評価を受けた点があります。動物の研究者との交流です。これに関しては領域内だけではどうしても限界があるので、各計画班が動物の研究者をパートナー研究者として選び、個別の研究について多面的な意見交換を行ってきました。また、領域主催の幹細胞研究会や国際シンポジウム、学会シンポジウム等で動植物分野の研究者がほぼ半々の割合で発表し、お互いにわかりやすい説明を心掛けながら幹細胞について議論を重ねてきました。このよう

な活動は領域発足当初から意識的に計画してきたので、それが評価されたのは非常に嬉しいことです。領域にとっては、動物分野との交流を通じて幹細胞ニッチの定義など、分野によって異なる概念が顕在化してきたので、固定観念にとらわれず共通原理を追求していくための土壌が出来上がりつつあると感じています。

さて、これから後半の2年間となります。これまで「領域全体で取り組む作業仮説」を探すのに奔走してきましたが、今後はその仮説の証明に向けて各班の強みを生かした研究を進め、それぞれの成果を結集していきたいと考えています。すでにレールは敷かれたので、あとは私が脱線しないようにコントロールしていけば、世界に発信できるような新たな概念に辿り着けると思います。オーケストラで言えば、今はパート練習と全体練習が終わって、リハーサルの段階まで来ているような状態でしょうか。2014年に亡くなりましたが、クラウディオ・アバドという指揮者がいました。言葉で表現するのがあまり得意な人ではなかったらしく、練習をスムーズに進めるのが苦手だったそうですが、本番になると流れるような指揮で、大きくうねるような音楽を紡ぎ出しました。指揮者の井上道義氏は、彼の練習について「抽象的すぎる音楽語法」「文学的なやりとりの少ない練習法」と語っています。それでどうして本番でオーケストラをまとめられたのか不思議でなりません、それがスカラ座、ウィーン、ベルリンで一時代を築いた才能なのでしょう。私はもちろんアバド氏には遠く及びませんが、これからのリハーサル、その後の本番に向けて、ただレールに乗っていただけではなく、ダイナミックなうねりを生み出すような努力は続けていきたいと思っています。ちなみに、アバド氏は2000年に癌の手術を受けてからは、ルツェルン祝祭管弦楽団を再編成するなどして、若手の育成にかなり力を注ぎました。私達の新学術領域でも、若手育成は後半の重要な課題と捉えています。本領域で創り出す概念を基盤とし

て、さらに広い分野で若手研究者が飛躍できるよう、良い環境を作っていきたいと考えています。

それでは、今後とも皆様のご指導、ご鞭撻のほど、よろしくお願い申し上げます。

2020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



奈良猿沢池から望む興福寺五重塔

## 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

### 【研究の背景・目的】

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。私たちのグループは、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ています。

### 【研究成果】

これまでに、ヒメツリガネゴケの幹細胞を用いた研究でいくつかの研究成果が上がりました。

1) 動物細胞では「中心体(セントロソーム)」が紡錘体の配向を通じて分裂の非対称性を保障します。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。私たちは、ヒメツリガネゴケの幹細胞やタバコ培養細胞を使って、動物の中心体に相当する微小管構造を発見し、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(Kosetsu et al. 2017)。

2) 染色体上に構築される「動原体」は染色体の娘細胞への正確な分配に必要不可欠で、動物では数十のタンパク質から構成されることが知られています。私たちは、ヒメツリガネゴケ幹細胞を使った解析により、動原体タンパク質の欠損が染色体分配の異常を引き起こすだけでなく、細胞を2つに分ける「細胞質分裂」過程を阻害することを見出しました。その結果、得られた染色体を通常の2倍持つ幹細胞は、その後も成長と分裂を続け、最終的にゲノムが倍加したヒメツリガネゴケ個体が生まれました。通常、個体のゲノム倍加は生殖過程での何らかのエラーによって引き起こされると考えられていますが、この研究での発見は、たった一つの体細胞(幹細胞あるいは幹細胞にリプログラミングされる細胞)での動原体欠損が最終的にゲノム倍加植物を誘導していることを示しています(Kozgunova et al. 2019)。

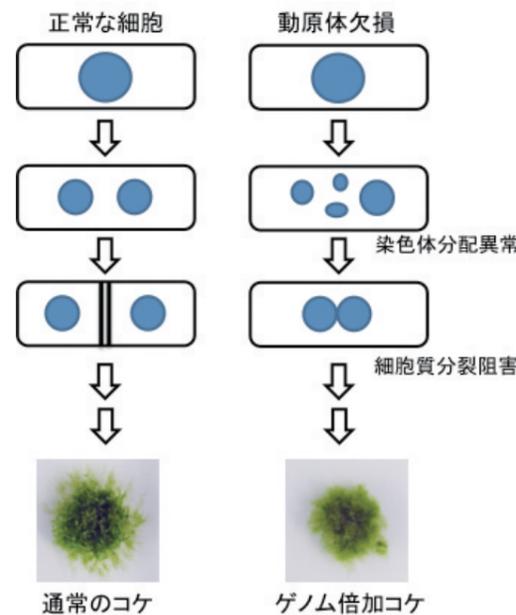
3) 他にも、ヒメツリガネゴケにおいて斜光照明蛍光イメージング法や正確なゲノム編集ツールを開発したり(Kozgunova and Goshima. 2019; Yi and Goshima. 2019)、非対称分裂の準備段階である核の細胞内配置を司るモータータンパク質や幹細胞の細胞骨格を制御する因子を見出しました(Yamada et al. 2017; Yamada and Goshima. 2018; Leong et al. 2018; Yoshida et al. 2019; Leong et al. 2020)。

### 【今後の展望】

微小管結合因子、キネシンモーター、極性化に重要な役割を果たすことが濃厚な因子の破壊株を作出する「網羅的逆遺伝学」を継続し、見つかった興味深い遺伝子について細胞内動態解析を行うことで、非対称分裂の仕組みのさらなる理解を目指します。

### 【関連する研究成果論文リスト】

1. Yamada M, Tanaka-Takiguchi Y, Hayashi M, Nishina M, Goshima G. (2017). Multiple kinesin-14 family members drive microtubule minus-end-directed transport in plant cells. *J. Cell Biol.* 216(6):1705-1714
2. Kosetsu K, Murata T, Yamada M, Nishina M, Boruc J, Hasebe M, Van Damme D, Goshima G. (2017). Cytoplasmic MTOCs control spindle orientation for asymmetric cell division in plants. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 114(42):E8847-E8854
3. Yi P, Goshima G. (2018). Microtubule nucleation and organization without centrosomes. *Curr Opin Plant Biol.* 46:1-7
4. Yamada M, Goshima G. (2018). The KCH Kinesin Drives Nuclear Transport and Cytoskeletal Coalescence to Promote Tip Cell Growth in Physcomitrella patens. *Plant Cell.* 30(7):1496-1510
5. Leong SY, Yamada M, Yanagisawa N, Goshima G. (2018). SPIRAL2 Stabilises Endoplasmic Microtubule Minus Ends in the Moss Physcomitrella patens. *Cell Struct Funct.* 43(1):53-60
6. Kozgunova E, Goshima G. (2019). A versatile microfluidic device for highly inclined thin illumination microscopy in the moss Physcomitrella patens. *Sci Rep.* 9(1):15182
7. Yi P, Goshima G. (2019). Transient cotransformation of CRISPR/Cas9 and oligonucleotide templates enables efficient editing of target loci in Physcomitrella patens. *Plant Biotechnol J.*
8. Yoshida MW, Yamada M, Goshima G. (2019). Moss Kinesin-14 KCBP Accelerates Chromatid Motility in Anaphase. *Cell Struct Funct.* 44(2):95-104
9. Kozgunova E, Nishina M, Goshima G. (2019). Kinetochore protein depletion underlies cytokinesis failure and somatic polyploidization in the moss Physcomitrella patens. *eLife* pii:e43652
10. Leong SY, Edzuka T, Goshima G, Yamada M. (2020). Kinesin-13 and Kinesin-8 Function During Cell Growth and Division in the Moss Physcomitrella patens. *Plant Cell.* in press



図：動原体欠損と細胞質分裂の失敗、倍数体化



研究分担者

佐藤 豊

国立遺伝学研究所 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

～イネを用いた幹細胞非対称分裂機構の解明～

私たちの研究グループは、植物幹細胞の新生・維持に必要な非対称分裂機構を明らかにすることを目的に、非対称分裂に機能することが予想されるMAPキナーゼ情報伝達経路に関わる複数のイネ胚発生突然変異系統の解析を進めています。材料としている突然変異系統は、球状型胚 (*globular embryo: gle*) と呼ばれるタイプの変異型胚を形成します。*gle* 変異型胚は、発生の初期課程では野生型と形態的に区別が付きません。しかし、その後、野生型にも見られる球状胚期を過ぎても、目立った組織や器官の分化が見られず、球状のまま細胞が増殖します。その結果、発芽後の植物の成長を司る二つの幹細胞集団である茎頂分裂組織や根端分裂組織も形成されないために、発芽も発根もしません。このような形質を示す突然変異系統 *gle4* の原因遺伝子が MAP キナーゼをコードすることをこれまでに明らかにしました。

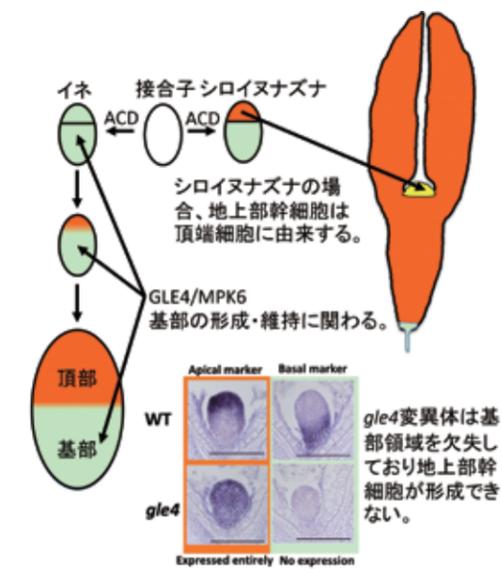
シロイヌナズナにおいて、この MAP キナーゼに関わる経路は気孔や接合子の非対称分裂に機能することが明らかにされています。そこで、*gle4* 変異体の接合子非対称分裂を観察したところ、イネでは野生型と区別なく非対称分裂を観察することができました。その後の表現型解析から、*gle4* 変異体では、基部領域を欠失し、主に将来の胚盤を頂部領域に置き換わっていることがわかりました。また、シロイヌナズナでは茎頂分裂組織は受精後初期段階で頂端細胞が構成する胚の頂部側に由来する細胞から作られ

ることが知られていますが、イネの場合、基部の側方領域に受精後しばらくしてから作られることがわかりました。このように、イネとシロイヌナズナで、植物の成長の基本的方向性を示す頂部-基部軸の形成に違いが見られることがわかりました。

多細胞生物では、器官・組織の配置や成長の方向が様々な極性情報に基づく体軸によって規定されています。ショウジョウバエなど多くの動物の初期発生で最も初期に観察が可能な体軸である前後軸は卵細胞における物質局在の非対称性に由来することが知られています。多くの植物にみられる上下の成長方向を規定する体軸である頂部-基部軸は胚発生の初期に形成されること知られています。また、多くの植物では接合子が上下に非対称に分裂することも知られています。しかしながら頂部-基部方向の体軸を作り出す非対称性の起源や接合子非対称分裂と頂部-基部軸との関係については多くのことがわかっていません。これらの未解明な点を明らかにするために今後も *gle4* に関連する突然変異の解析を続ける予定です。

### 【関連する研究成果論文リスト】

Kiyoe Ishimoto, Shino Sonohara, Mitsuko Kaboshi-Kishi, Jun-ichi Itoh, Ken-ichiro Hibara, Yutaka Sato, Tsuneaki Watanabe, Kiyomi Abe, Akio Miyao, Misuzu Nosaka-Takahashi, Toshiya Suzuki, Nhung Kim Ta, Sae Shimizu-Sato, Takamasa Suzuki, Atsushi Toyoda, Hirokazu Takahashi, Mikio Nakazono, Yasuo Nagato, Hirohiko Hirochika, and Yutaka Sato (2019) Specification of the basal region identity after asymmetric zygotic division requires mitogen-activated protein kinase 6 in rice. *Development*, 146, dev176305



図：イネとシロイヌナズナにおける接合子非対称分裂後の植物幹細胞形成

# A01 計画研究班

## 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

### 【研究の背景・目的】

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ことが知られています。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、未分化の状態で維持されていると考えられます。したがって維管束植物を形づくる主要な器官は、胚発生で規定された幹細胞系譜に由来します。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ます。

根粒菌の感染による皮層細胞分裂(図1)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を引き起こされます。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ます。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ます。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ます。NINは根粒形成に必要な転写因子ですが、アーバスキュラー菌根菌との共生には必要ありません。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ます。

そこで、1. NINの下流でどのような遺伝子が動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動くことによって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と考えています。

具体的にはNINの一過発現誘導によるRNA-seqとChIP-seqをおこない、さらにNINの発現する細胞に特徴的な遺伝子発現プロファイルを検証するための1細胞解析の開発にも取り組んでいます。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などで解析する予定です。

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、進化の過程で特異的な新規形質(すなわち根粒形成)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す。

### 【研究成果】

NINの下流で発現誘導される転写因子遺伝子に着目し、根粒形成に与える機能を検証しました。その結果、側根形成に必要な転写因子LBD16(ASL18)が根粒形成にも関与することを明らかにしました。LBD16遺伝子のイントロンにはNINが結合する配列が認められ、これはマメ科特異的であり、LBD16遺伝子の根粒原基での発現に重

要でした。また、LBD16はこれまでに同定した転写因子NF-Yと複合体を形成し、これら遺伝子を異所的に発現することで皮層におけるNINの機能を代替したことから、NINの下流でLBD16とNF-Yが協調的に機能し、根粒形成に働くと考えられました。これらの知見は根粒形成に進化において、側根形成プログラムが流用されたことを示唆しています。

また領域内共同研究として、理研の養田らと植物における1細胞RNA-seq解析プラットフォームを立ち上げました。これを活用し、根粒形成において皮層細胞の分裂が誘導される際の、1細胞レベルでの遺伝子発現の変化と、分裂予定細胞に特徴的な遺伝子発現プロファイルの取得を目論んでいます。

NIN遺伝子の発現調節機構については、NIN上流の共通共生経路で機能するCASTOR変異体の抑圧変異体の解析から、新たにCAMTAを見出しました。CAMTAはNIN遺伝子の発現を調節する転写因子CYCLOPSと相互作用し、その機能を抑圧していると考えられます。

### 【今後の展望】

1細胞RNA-seqにより、皮層細胞分裂の誘導に重要な遺伝子の同定・機能解析を続けるとともに、新たにクロマチン構造の変化にも着目し、1細胞ATAC-seq解析を検証することで、分裂する皮層細胞と分裂しない皮層細胞の違いに迫りたいと考えています。さらにこれまでの研究により、CYCLOPSとは独立したNIN遺伝子の転写機構が見えてきました。そこで、NIN遺伝子のプロモータ領域を詳細に解析することでNINを中心とした転写制御ネットワークの全貌を明らかにしたいと考えています。

### 【関連する研究成果論文リスト】

- Shimoda Y, Nishigaya Y, Yamaya-Ito H, Inagaki N, Umehara Y, Hirakawa H, Sato S, Yamazaki T, Hayashi M (2020) The rhizobial autotransporter determines the symbiotic nitrogen fixation activity of *Lotus japonicus* in a host-specific manner. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 117: 1806-1815.
- Soyano T, Shimoda Y, Kawaguchi M, Hayashi M (2019) A shared gene drives lateral root development and root nodule symbiosis pathways in *Lotus*. *Science* 366: 1021-1023.
- Shimoda Y, Imaizumi-Anraku H, Hayashi M (2019) Kinase activity-dependent stability of calcium/calmodulin-dependent protein kinase of *Lotus japonicus*. *Planta* 250: 1773-1779.
- Liu M, Soyano T, Yano K, Hayashi M, Kawaguchi M (2019) ERN1 and CYCLOPS coordinately activate NIN signaling to promote infection thread formation in *Lotus japonicus*. *J. Plant Res.* 132: 641-653.

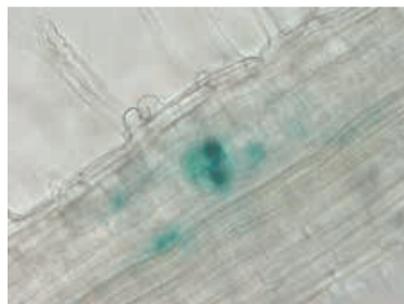


図: CycB1;1プロモータを指標にした皮層細胞分裂の様子

## 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 教授

### 【研究の背景・目的】

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、無性芽原細胞を次々と生み出す幹細胞群として振る舞います。無性芽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つの栄養成長幹細胞をもつ円盤状の無性芽となります。本研究では、ゼニゴケの杯状体と無性芽発生の分子機構に着目し、陸上植物に保存された幹細胞新生の制御機構を明らかにすることを目的としています。

### 【研究成果】

ゼニゴケは、高効率の核ゲノム形質転換系を基盤としてCRISPR/Cas9系によるゲノム編集など様々な分子遺伝学の実験系が整った半数体モデル植物である。本領域の梅田班や西浜班と共に参画した国際コンソーシアムによるゼニゴケ全ゲノム解読プロジェクトが完了し解析結果の取りまとめに貢献しました(論文7)。植物ホルモンの生合成系やシグナル伝達系、多様な転写因子レパートリー、様々な代謝系がコケ植物と維管束植物の共通祖先で既に獲得されていたことが明らかとなりました。

また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を同定し、その機能の一端を明らかにしました(論文2)。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。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。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メリステム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、メリステム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。また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を示しました(PSC最前線参照)。

杯状体底部での無性芽発生についての解析も進めました。杯状体は形成されるけれど無性芽が全く形成されないkarappo変異体の解析から、杯状体底部細胞におけるKARAPPOタンパク質によるROP GTPアーゼの活性化が無性芽発生の初期に重要であることが明らかになりました(論文3:図)。

その他、ゼニゴケの幹細胞制御に関わる領域内・領域外共同研究も成果を挙げています(論文1, 4, 5, 6)。

### 【今後の展望】

現在、幹細胞新生におけるGCAM1の機能に焦点をあて、上流および下流の遺伝子制御ネットワークについて解析が進んでいます。更に領域内共同研究による1細胞解析やクロマチン動態の解析などを通じ、オーキシンやサイトカニンなど植物ホルモンとの関わりにも着目して、陸上植物に共通する幹細胞新生の謎に迫りたい。

### 【関連する研究成果論文リスト】

- Naramoto, S., Jones, V.A.S., Trozzi, N., Sato, M., Toyooka, K., Shimamura, M., Ishida, S., Nishitani, K., Ishizaki, K., Nishihama, K., Kohchi, T., Dolan, L. and Kyoduka, J. (2019) A conserved regulatory mechanism mediates the convergent evolution of plant shoot lateral organs. *PLoS Biol.* 9: e3000560.
- Yasui, Y., \*Tsukamoto, S., Sugaya, T., Nishihama, R., Wang, Q., Kato, H., Yamato, K.T., Fukaki, H., Mimura, T., Kubo, H., Theres, K., Kohchi, T. and Ishizaki, K. (2019) GEMMA CUP-ASSOCIATED MYB1, an ortholog of axillary meristem regulator, is essential for vegetative reproduction in a liverwort *Marchantia polymorpha*. *Curr. Biol.* 29: 3987-3995.\*Equal Contribution
- Hiwatashi, H., Goh, H., Yasui, Y., Koh, L.Q., Takami, H., Kajikawa, M., Kirita, H., Kanazawa, T., Minamino, N., Togawa, T., Sato, M., Wakazaki, M., Shigenobu, S., Fukaki, H., Mimura, T., Toyooka, K., Sawa, S., Yamato, K.T., Ueda, T., Urano, D., Kohchi, T. and Ishizaki, K. (2019) The RopGEF KARAPPO is essential for the initiation of vegetative reproduction in *Marchantia polymorpha*. *Curr. Biol.* 29: 3525-3531.
- Aki, S.S., Mikami, T., Naramoto, S., Nishihama, R., Ishizaki, K., Kojima, M., Takebayashi, Y., Sakakibara, H., Kyozuka, J., Kohchi, T. and Umeda, M. (2019) Cytokinin signaling is essential for organ formation in *Marchantia polymorpha*. *Plant Cell Physiol.* 60: 1842-1854.
- Hirakawa, Y., Uchida, N., Yamaguchi, Y.L., Tabata, R., Ishida, S., Ishizaki, K., Nishihama, R., Kohchi, T., Sawa, T. and Bowman, J.L. (2019) Control of proliferation in the haploid meristem by CLE peptide signaling in *Marchantia polymorpha*. *PLoS Genetics* 15: e1007997.
- Eklund, D.M., Kanei, M., Flores-Sandoval, E., Ishizaki, K., Nishihama, R., Kohchi, T., Lagercrantz, U., Bhalerao, R.P., Sakata, Y. and Bowman, J.L. (2018) An evolutionary conserved abscisic acid signaling pathway regulates dormancy in the liverwort *Marchantia polymorpha*. *Curr. Biol.* 28: 3691-3699.
- Bowman, J.L., et al. (2017) Insights into land plant evolution garnered from the *Marchantia polymorpha* genome. *Cell* 171: 287-304.

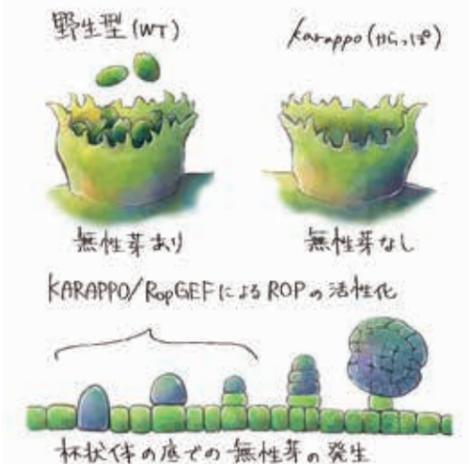


図: 杯状体における無性芽発生開始の仕組み  
ROP GTPアーゼの活性化を担うKARAPPOタンパク質は、杯状体の底部細胞からの無性芽発生開始に必須の役割をもつ(論文3)。

## 幹細胞増殖を制御する植物ホルモンの機能解明

～茎頂幹細胞の増殖維持機構における植物ホルモンの機能解明～



研究代表者

榊原 均

名古屋大学大学院生命農学研究所 教授

### 【研究の背景・目的】

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、茎頂幹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まだよく理解されていません。幹細胞の増殖を厳密かつ柔軟に制御するしくみを理解するためには、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必要不可欠です。本研究課題では、サイトカイニンの生合成・代謝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することを目的としています。

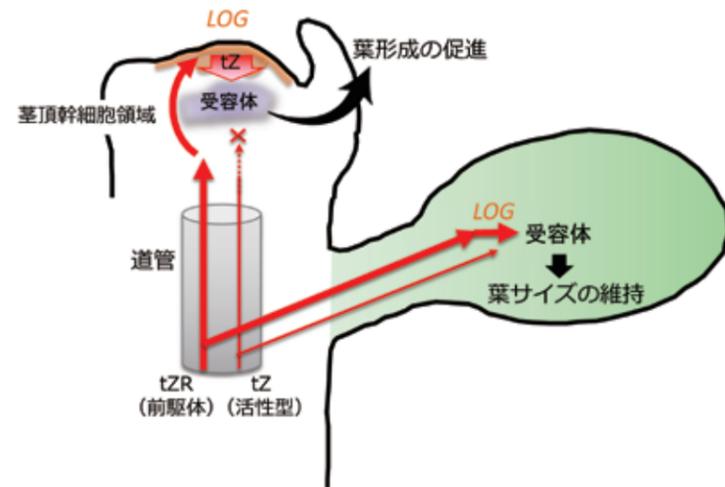
### 【研究成果と今後の展望】

- ・維管束を介した根から地上部へのサイトカイニン輸送形態には活性型 (tZ) と前駆体 (tZR) の二種類があること、その濃度比は窒素栄養条件により変動することを明らかにしました。二種類の輸送形態のうち、茎頂分裂組織細胞の分裂維持に関わるサイトカイニンはtZR由来が主であり、LOGにより活性型に変換されたものが作用していることをシロイヌナズナ変異体の接木実験により示しました (Osugi et al. 2017)。
- ・高CO<sub>2</sub>条件でシロイヌナズナのシュート成長は促進されますが、光合成由来の糖により根で誘導されるサイトカイニン生合成が、この生長促進の原因の一つであることを明らかにしました (Kiba et al. 2019)。

- ・茎頂分裂組織細胞の分裂維持に関わるサイトカイニンの、根から地上部への輸送を司るABCG14の輸送特性について、シロイヌナズナ培養細胞T87での発現系を用いることで、ヌクレオチド型前駆体 (iPRPs, tZRP) を輸送基質とすることを示唆する結果を得ています (論文準備中)。現在、輸送活性を*in vitro*でアッセイする系の確立を進めています。また、茎頂幹細胞周辺へのサイトカイニン前駆体の供給や活性型の輸送に関わる新規輸送体の探索同定を上述の培養細胞T87での発現系を用いて進めています。
- ・茎頂部でのLOGの発現はL1層に限定されている一方で、受容体AHKはオーガニズセンター (OC) で発現しています。両者の空間的分離の重要性や生物学的意義を検証するため、活性化と受容体分離しない形質転換体 (OCでのLOG発現ライン、L1層でのAHK発現ラインなど) やサイトカイニンシグナリングの空間的配置改変した形質転換体の作出と解析を進めています。

### 【関連する研究成果論文リスト】

1. Osugi A, Kojima M, Takebayashi Y, Ueda N, Kiba T, Sakakibara H. Systemic transport of *trans*-zeatin and its precursor have differing roles in shoots of Arabidopsis. *Nature Plants* (2017) 3: 17112.
2. Kitagawa M, Tomoi T, Fukushima T, Sakata Y, Sato M, Toyooka K, Fujita T, Sakakibara H. Abscisic acid acts as a regulator of molecular trafficking through plasmodesmata in the moss *Physcomitrella patens*. *Plant Cell Physiology* (2019) 60: 738–751.
3. Kiba T, Takebayashi Y, Kojima M, Sakakibara H. Sugar-induced de novo cytokinin biosynthesis contributes to Arabidopsis growth under elevated CO<sub>2</sub>. *Scientific Reports* (2019) 9: 7765.



図：サイトカイニンと前駆体輸送による茎頂幹細胞分裂調節のしくみを解明

## 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～



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

### 【研究の背景・目的】

イネ科作物の茎伸長は節間に存在する介在分裂組織が活性化され、ジベレリン (GA) と協調することで誘導される。しかし、この介在分裂組織がいつ、どこに、どのように発生、休眠、再活性化するのは不明である。そこで本課題では、介在分裂組織の節間伸長に対する一連の制御機構を、植物ホルモンを通して明らかにしていくことを目的とする。

### 【研究成果】

これまで、浮きイネのGA依存性節間伸長を制御するQTLをイネ第3染色体および第12染色体に見いだしており、ポジショナルクローニングにより原因遺伝子を同定した。第3染色体に座乗するQTLは未知の遺伝子をコードしており、浮きイネ型のアリルはGA依存性に節間伸長を誘導するアクセルの効果を持することから、ACCELERATOR OF INTERNODE ELONGATION1 (ACE1)と命名した。一方、第12染色体に座乗するQTLは転写因子をコードしており、節間伸長を負に制御するブレーキの役割をしていることから DECELERATOR OF INTERNODE ELONGATION1 (DEC1)と命名した。ACE1とDEC1はantagonisticallyに節間の介在分裂組織の活性を制御しており、浮きイネは両者の遺伝子発現のバランスとジベレリンによって節間伸長を行うことが明らかになった。一般的な日本のイネは栄養成長期には節間伸長せず、生殖成長に移行してから節間伸長を誘導する。これまで、一般的なイネの節間伸長のメカニズムは不明であったが、栄養成長から生殖成長に移行するタイミングで

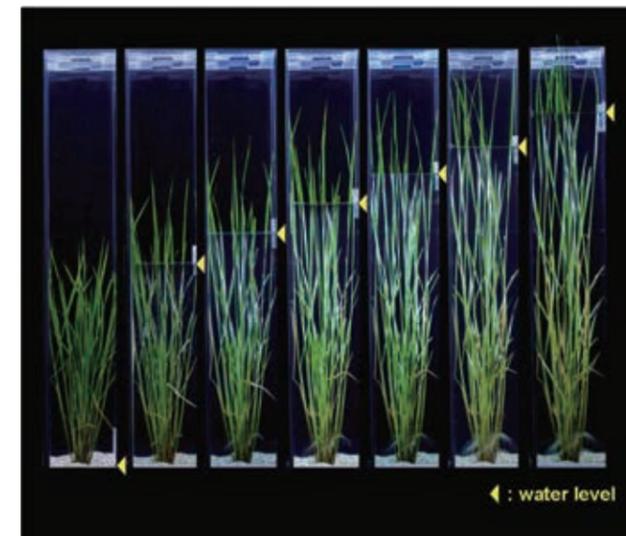
ACE1-like1 タンパク質が発現し、かつDEC1遺伝子の発現が低下することが明らかになり、一般的なイネにおいてもアクセルとブレーキを巧みに制御して節間伸長を制御していることが明らかになった。栽培イネ*O. sativa*の祖先種である*O. rufipogon*におけるACE1およびDEC1遺伝子を調査したところ、浮きイネ型ACE1およびDEC1遺伝子を保持した系統が多数存在し、これらの系統は実際に深水依存性節間伸長を引き起こした。以上の結果から、浮きイネの保持する深水依存性に節間伸長は*O. rufipogon*に由来し、洪水が多発する地帯においてACEやDEC1を保持するような選択圧がかかり、現在の浮きイネ型の栽培イネが誕生したと考えられる。一方、洪水が起こらない地域では、ACE1やDEC1を欠失するように選ばれたか、もともと深水依存性に節間伸長しないタイプの*O. rufipogon*から栽培化された可能性が考えられた。

### 【今後の展望】

イネ節間伸長を制御する新しい因子ACE1とDEC1が見つかり、またその両因子が相反して介在分裂組織の活性を制御していることが見え始めた。今後はACE1とDEC1遺伝子がどのような因子とともに何の遺伝子を制御することで介在分裂組織を制御しているのかを明らかにしたい。

### 【関連する研究成果論文リスト】

1. Mori et al. (2019) Diel O<sub>2</sub> Dynamics in Partially and Completely Submerged Deepwater Rice: Leaf Gas Films Enhance Internodal O<sub>2</sub> Status, Influence Gene Expression and Accelerate Stem Elongation for 'Snorkelling' during Submergence. *Plant and Cell Physiology*. Volume 60: 973–985.



図：深水依存的に介在分裂組織を活性化して伸長する浮きイネ

# A01 計画研究班

## 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  
京都大学化学研究所 教授

### 【研究の背景・目的】

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します。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、花などの器官が生成します。ファイトマーが増えると腋芽幹細胞が増え、新たな枝が成長します。この繰り返りで植物個体は成長します。ファイトマーは茎頂メリステムの幹細胞から規則的に生み出されますが、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ません。

イネの *plastochron1 (pla1)* 変異体およびシロイヌナズナの *kluh (klu)* 変異体は、一定期間に着ける葉の数が多い(葉間期が短い)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ます。

これまでの研究から、*PLA1/KLU* 遺伝子は CYP78A サブファミリーに属する機能未知のシトクロム P450 酸化酵素をコードしていることが明らかにされています。また、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 (CYP78A 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ます。しかしながら、その化学的実体は解明されていません。私たちは CYP78A の基質と生成物の同定を目指しています。

一方、カロテノイド由来する植物ホルモンである「ストリゴラクトン」は、腋芽の成長を抑制することにより枝分かれ数を減少させます。したがって、ストリゴラクトンは腋芽幹細胞の活性調節に関与すると考えられます。私たちは、ストリゴラクトンの生合成や受容機構の研究を進めています。

### 【研究成果】

*pla1* の葉間期の表現型に関わる CYP78A シグナルの下流遺伝子を取得するため、イネ茎頂部を材料に RNA-seq 解析を行いました。その結果、転写因子をコードする *OsSPL14*、*OsSPL17* の発現が、*pla1* 変異体で低下することが明らかになりました。*OsSPL14* の過剰発現体では葉間期が長くなることから、*OsSPL14*、*OsSPL17* の発現低下が *pla1* における葉間期の短縮、すなわち腋芽幹細胞の新生のタイミングの変化に繋がっている可能性が示唆されました。

CYP78A サブファミリーは陸上植物で高く保存されています。私たちは以前にヒメツリガネゴケの *CYP78A27* と *CYP78A28* の二重破壊株 (*cyp78a* 二重変異体) においては、原糸体の成長や茎葉体の形成が異常になることを明らかにしました。CYP78A の生成物を同定するため、*CYP78A28* 過剰発現体の抽出物を分画し、*cyp78a* 二重変異体に投与したところ、原糸体の伸長が観察されました。コントロール

として同じ抽出画分を *cyp78a* 二重変異体から調製し、*cyp78a* 二重変異体に投与した場合には、原糸体の伸長は認められませんでした。現在、このアッセイ系の再現性を検討しています。

また、ストリゴラクトンの受容体である DWARF14 は、ストリゴラクトンを認識して信号を伝達するとともに、ストリゴラクトンを加水分解して役割を終えたホルモン分子を不活性化することが示唆されました。

### 【今後の展望】

ヒメツリガネゴケの *cyp78a* 二重変異体においては原糸体の枝分かれが減少し、*CYP78A* 過剰発現体では原糸体の枝分かれが増加することが明らかになりました (図)。今後、原糸体の枝分かれの表現型が上記の抽出画分で相補されるのかどうか、調べて行く予定です。また、RNA-seq で得られた遺伝子が、CYP78A シグナル探索のマーカージンとして利用できるかどうかを検討します。

### 【関連する研究成果論文リスト】

- Seto Y, Yasui R, Kameoka H, Tamiru M, Cao M, Terauchi R, Sakurada A, Hirano R, Kisugi T, Hanada A, Umehara M, Seo E, Akiyama K, Burke J, Takeda-Kamiya N, Li W, Hirano Y, Hakoshima T, Mashiguchi K, Noel JP, Kyojuka J & Yamaguchi S. (2019) Strigolactone perception and deactivation by a hydrolase receptor DWARF14. *Nat Commun.*, 10: 191.
- Yasui R, Seto Y, Ito S, Kawada K, Ito-Nakama K, Mashiguchi K & Yamaguchi S. (2019) Chemical screening of novel strigolactone agonists that specifically interact with DWARF14 protein. *Bioorg Med Chem Lett.*, 29: 938-942.
- Bürger M, Mashiguchi K, Lee HJ, Nakano M, Takemoto K, Seto Y, Yamaguchi S & Chory J. (2019) Structural basis of karrikin and non-natural strigolactone perception in *Physcomitrella patens*. *Cell Rep.*, 26: 855-865.e5.

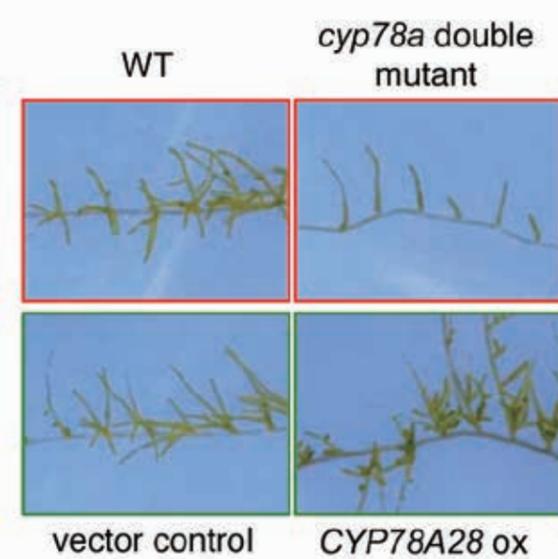


図: CYP78A シグナルはヒメツリガネゴケ原糸体の枝分かれに影響する。

# A02 計画研究班

## 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所 教授

### 【研究の背景・目的】

花を眺める多くの場合、私たちが鑑賞しているのは個々の花ではなく花序と呼ばれる花の集合です。花序の形態を決定する主な要因は花序の枝分かれパターンであり、これは花序形成において新たに形成される幹細胞の多能性に依存します。花序形成の初期に形成される枝別れでは幹細胞の多能性が維持され、さらに枝分かれが続きます。

しかし、ある段階に達すると、幹細胞の多能性が一過的であり、それ以上の枝分かれが起らない「花芽」が形成されます。本研究では、幹細胞の多能性が維持され枝分かれが続く段階から花芽形成段階への発生プログラムの切り替えのタイミングがどのように制御されるのかを明らかにすることを目的としています。

### 【研究成果】

イネでは、*TAWAWA1 (TAW1)* 遺伝子の働きに応じて花序の枝分かれが増えます。すなわち、TAW1 が枝分かれ形成から花芽形成へのプログラムの切り替えを遅らせるということであり、TAW1 には幹細胞の多能性を維持する機能があると考えています。しかしながら TAW1 が幹細胞ではなく幹細胞の周囲で発現することから、私たちは、TAW1 は何らかの間接的な作用により幹細胞の性質を調節するという仮説を立てました。

TAW1 は転写因子であり、コケ植物を含む陸上植物に広く存在します。そこで、TAW1 による幹細胞制御の仕組みを解析するにはメリステムに単一の多能性幹細胞 (頂端幹細胞) が存在するコケ植物が (図1) 有効ではないかと考えました。まず、ゼニゴケにおいて TAW1 の機能を解析したところ、TAW1 は副鱗片という痕跡的な葉状器官の原基で発現し、TAW1 の機能を失うと副鱗片が過剰に成長し、さらに幹細胞が維持されなくなるを見出しました。これにより、

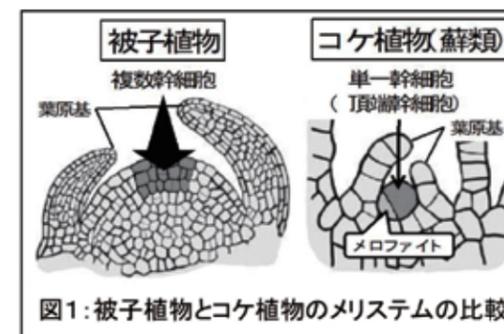


図1: 被子植物とコケ植物のメリステムの比較

TAW1 は直接的に器官の分化運命を制御し、間接的に幹細胞の多能性の維持に関わると考えられました。

次に、頂端幹細胞の観察に適したヒメツリガネゴケを用いて TAW1 が頂端幹細胞の維持に果たす役割をさらに解析しました。幹細胞の分裂は非対称分裂であり、娘細胞のうち一方が幹細胞として維持され、もう一方は葉原基や茎へと分化する細胞 (メロファイト) に分化します。ヒメツリガネゴケは、原糸体と呼ばれる単細胞列からなる繊維状の組織を形成し、原糸体の一部の枝分かれは茎と葉をもつ茎葉体の原基を形成します。分子マーカーを利用して茎葉体形成における PpTAW の局在パターンを観察したところ、PpTAW は頂端幹細胞で特異的に発現が抑制されることが明らかになりました (図2)。また、薬剤依存的に PpTAW2 を構成的かつ過剰に発現する系を用いて PpTAW2 を頂端幹細胞で発現させたところ、幹細胞の機能が低下しました。このことから、ヒメツリガネゴケにおいても、PpTAWs は細胞自律的に器官の分化運命決定に関与する一方で、細胞非自律的な経路を介して頂端幹細胞の機能を維持することが分かりました (図3)。

### 【今後の展望】

TAW1 の機能の理解は、頂端幹細胞を維持するための新たなメカニズムの解明につながるものと期待しています。

### 【関連する研究成果論文リスト】

- Naramoto S, Hata Y, Kyojuka J. (2020) The origin and evolution of the ALOG proteins, members of a plant-specific transcription factor family, in land plants. *Plant Res.* in press.
- Naramoto S, Jones VAS, Trozzi N, Sato M, Toyooka K, Shimamura M, Ishida S, Nishitani K, Ishizaki K, Nishihama R, Kohchi T, Dolan L, Kyojuka J. (2019) A conserved regulatory mechanism mediates the convergent evolution of plant shoot lateral organs. *PLoS Biol.* 17 (12): e3000560.
- Hata Y, Naramoto S, Kyojuka J. (2019) BLADE-ON-PETIOLE genes are not involved in the transition from protonema to gametophore in the moss *Physcomitrella patens*. *J Plant Res.* 132(5): 617-627.

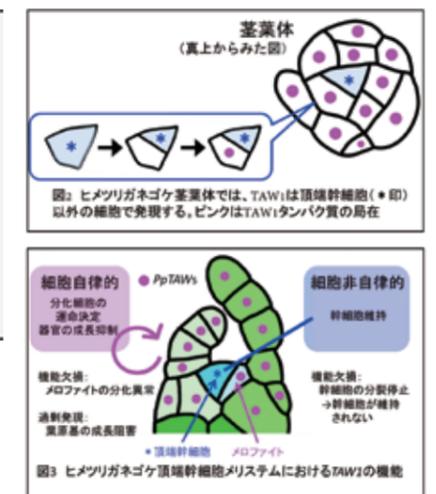


図3: ヒメツリガネゴケ頂端幹細胞メリステムにおける TAW1 の機能

## 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

### 【研究の背景・目的】

イメージング解析や電子顕微鏡（電顕）技法により幹細胞系譜を追う解析は、これまでほとんど行われていませんでした。本研究では、最新の蛍光イメージング法と広域2次元および3次元電顕解析法、そして光-電子相関顕微鏡法により幹細胞を特定する技術開発を行うとともに、それら技術を用いて幹細胞の特徴や幹細胞系譜の形成過程を明らかにします。また、イメージング解析技術を活かし、領域内の研究サポートおよび共同研究を遂行します。

### 【研究成果】

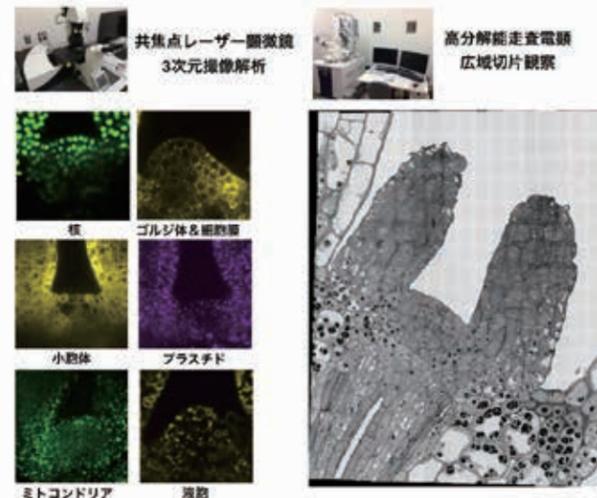
植物幹細胞解析センターに新規導入した共焦点レーザー顕微鏡を用いた植物組織観察系を立ち上げ、試料調製法および観察法を検討しました。細胞内膜系に蛍光タンパク質を融合させたシロイヌナズナ形質転換体を作製するとともに、様々な蛍光標識オルガネラ形質転換シロイヌナズナを用いて、根端および茎頂の網羅的蛍光3次元解析（オルガネローム解析）を進めています。さらに、根端および茎頂における細胞内小器官の微細構造および分布を詳細に明らかにするために、広域電顕撮影法および連続切片走査電顕法の技術検討を行い、メリステム領域の広域電顕像および連続切片像を取得しました。そして、それら電顕像をウェブ公開するための技術検討を行い、一部の広域電顕像を公開しました。イメージング解析技術を活かし、領域内共同研究を16件遂行し、領域班員と6報の共著論文を発表しました。第1回PSAC技術講習会を開催し、学生、ポスドク、教員らが参加し、蛍光イメージング法の実習と講習を行いました。また、当学術領域後援の電顕ワークショップを3回および技術講習会を2回、開催しました。

### 【今後の展望】

オスミウムやエポキシ樹脂に耐性を持つ蛍光タンパク質が開発され、樹脂包埋切片観察の際に超微形態と蛍光ともに捉えられるようになってきました（Nature Methods 2020他）。これら蛍光タンパク質を用いて、シロイヌナズナやイネなどを用いた1細胞解析や領域内で見出された幹細胞に特徴的なマーカー遺伝子候補と融合し、蛍光ライブイメージング解析を行います。そして、広域連続樹脂包埋切片を作製し、光-電子相関顕微鏡法および連続撮像走査電顕システムを組み合わせる事で、蛍光を放つ細胞群を特定し、幹細胞や幹細胞系譜の超微形態や特徴を明らかにしたいと思っております。さらに、モデル植物の根端および茎頂などの幹細胞および幹細胞系譜含む広域3次元電顕アトラスのウェブ公開を目指したいと考えています。

### 【関連する研究成果論文リスト】

1. Sugiyama Y., Nagashima Y., Wakazaki M., Sato M., Toyooka K., Fukuda H., Oda Y. (2019) "A Rho-actin signaling pathway shapes cell wall boundaries in Arabidopsis xylem vessels" *Nature Communication* 10, 468.
2. Cui Y., Cao W., He Y., Zhao Q., Wakazaki M., Zhuang X., Gao J., Zeng Y., Gao C., Ding Y., Wong H.-Y., Wong W.-S., Lam H.-K., Wang P., Ueda T., Rojas-Pierce M., Toyooka K., Kang B.-K., Jiang L. (2019) "Whole cell electron tomography reveals the nature and biogenesis of vacuoles in Arabidopsis root cells" *Nature Plants*, doi: 10.1038/s41477-018-0328-1
3. Toyooka K., Shinzaki-Narikawa N. (2019) Efficient fluorescence recovery using antifade reagents in correlative light and electron microscopy. *Microscopy* 68, 417-421
4. Hiwatashi T., Goh H., Yasui Y., Koh L.Q., Takami H., Kajikawa M., Kirita H., Kanazawa T., Minamino N., Togawa T., Sato M., Wakazaki M., Yamaguchi K., Shigenobu S., Fukaki H., Mimura T., Toyooka K., Sawa S., Yamato K.T., Ueda T., Urano D., Kohchi T., Ishizaki K. (2019) The RopGEF KARAPPO Is Essential for the Initiation of Vegetative Reproduction in *Marchantia polymorpha*. *Current Biology* 29, 3525-3531.e7
5. Naramoto S., Jones VAS., Trozzi N., Sato M., Toyooka K., Shimamura M., Ishida S., Nishitani K., Ishizaki K., Nishihama R., Kohchi T., Dolan L., Kyoizuka J. (2019) "A conserved regulatory mechanism mediates the convergent evolution of plant shoot lateral organs." *PLoS Biol.* 9:17, e3000560.
6. 佐藤藤子, 若崎真由美, 後藤友美, 豊岡公徳. 高圧凍結法を用いた植物の電子顕微鏡解析法. (2019) *Plant Morphology* 31, 25-29
7. 豊岡公徳 (2020) MirrorCLEM: シームレスな光-電子相関顕微鏡観察システム *HITACHI SI News* (in press) ほか13報



図(左): シロイヌナズナ茎頂のオルガネローム解析  
共焦点レーザー顕微鏡により撮像した、シロイヌナズナ茎頂における蛍光タンパク質標識した様々な細胞小器官の分布。

図(右): 高分解能走査電顕により撮像したシロイヌナズナ茎頂の広域切片電顕像。  
走査電顕像300枚をつなぎ合わせたメガピクセル像。

## 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

### 【研究の背景・目的】

植物には、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だけでなく、一過的で限られた多能性を有する幹細胞も存在します。その例として、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）が挙げられます。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）の仕組みの理解を目的とします。

### 【研究成果】

メリステモイド細胞の維持から分化へのステップには、非対称分裂（増殖分裂）から一回限りの対称分裂（最終分裂）への細胞分裂様式の転換が密に関与しています。前年度、私達のグループは、転写因子 MUTE が特定の細胞周期因子とそれら因子を抑制する転写因子の両者を誘導することにより、一回だけの対称分裂を統御することを明らかにしました。今年度は、非対称分裂から対称分裂への転換を担う細胞周期因子の探索を行いました。

まず、詳細なライブイメージング解析を行い、非対称分裂と対称分裂の周期を観測しました。その結果、メリステモイド細胞の非対称分裂は、孔辺母細胞の対称分裂よりも速いことがわかりました。そのため、対称分裂へのスイッチには細胞周期の減速が関わっていると仮説を立て、細胞周期を阻害するサイクリンキナーゼインヒビター（CKI）遺伝子に着目しました。MUTE は、KRP1 を含む CKI の発現を抑制する一方、2つの SIAMESE (SME)。遺伝子の発現を強く直接誘導することがわかりました。これら SME 遺伝子は、MUTE の姉妹転写因子であり、メリステモイドの誕生と維持を担う SPEECHLESS によ

て誘導されません。これら SME 遺伝子の T-DNA 挿入および CRISPR によって作出した機能欠損型突然変異体では、気孔系譜の非対称分裂が増え、表皮には細切れの小さな細胞が増えました。これら変異体では、孔辺母細胞の対称分裂の時間も速くなっていたため、「SME が対称分裂の速度減速に関わる」ことを示唆しています。

次に、SME 遺伝子を気孔系譜にて過剰発現させたところ、表皮細胞の数の減少が見られたのですが、意外なことに、気孔と表皮細胞の両方の性質を持つ、ハイブリッド細胞ができました。通常の CKI である KRP1 を気孔系譜にて過剰発現させても、このような発生運命の混乱は起こらず、単に、細胞分裂が阻害されます。これらの結果を合わせ、MUTE が直接誘導する SME は、孔辺母細胞の対称分裂を減速させることにより、気孔の分裂と分化を厳密に制御することがわかりました。

### 【今後の展望】

今年度は、SME による細胞周期減速メカニズムを、詳細な細胞周期マーカーを用いて観測するとともに、対称分裂を担う細胞周期因子 (CYCD5;1, CYCD7;1, CDKA1;1, CDKB1;1) との相互作用を明らかにする予定です。さらには、本研究から同定された、MUTE の機能調節に関わる転写因子や、転写因子阻害因子を介して、気孔系譜の維持と分化の分子機構の解明を目指します。

### 【関連する研究成果論文リスト】

1. Thomashow, M.K. and Torii, K.U. (2020) SCREAMing twist in the role of ICE1 in freezing tolerance. *Plant Cell* DOI: doi.org/10.1105/pc.20.0012
2. Putarjuna, A., Ruble, J., Srivastava, A., Zhao, C., Rychel, A.L., Hofstetter, A.K., Tang, X., Zhu, J.K., Tama, F., Zheng, N., and Torii, K.U. Bipartite anchoring of SCREAM enforces stomatal initiation by coupling MAP Kinases to SPEECHLESS. *Nature Plants* 5: 742-754 •Cover of the issue •News and Views "SCREAM in the making of stomata" *Nature Plants* 5: 648-649
3. Han, S.K., and Torii, K.U. (2019) Linking cell cycle to stomatal differentiation. *Curr Opin Plant Biol.* 51: 66-73

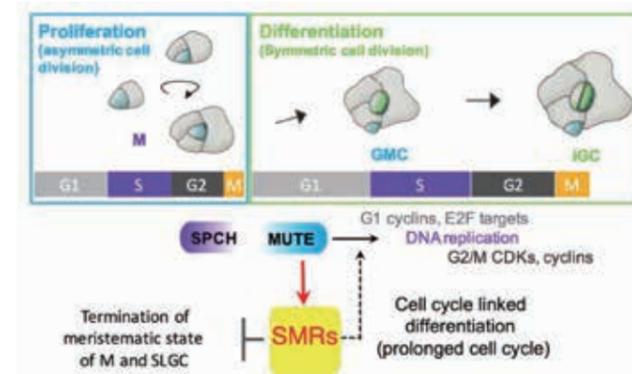


図: MUTE と SMR 細胞分裂阻害因子を介した、気孔系譜の維持と分化を担う細胞分裂様式の制御の模式図

## 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

神戸大学大学院理学研究科 准教授

### 【研究の背景・目的】

樹木に代表されるように、植物は年々、肥大成長をおこないます。このような永続的な成長を実現するためには、維管束幹細胞が適切に維持され、厳密に運命決定をおこなう必要があります。本研究課題では、維管束同調培養系VISUALを駆使して幹細胞の維持や運命制御を担う因子を分子遺伝学的に単離・解析することで、植物の永続的な成長を支える維管束幹細胞の理解に向けて研究を進めています。

### 【研究成果】

分化誘導系VISUALにおいては、葉の葉肉細胞を維管束幹細胞へと変え、その後木部細胞・篩部細胞への分化を短期間で効率よく誘導することができます。本研究では、VISUALを用いた遺伝学的解析から維管束幹細胞の未分化性の維持に関わる因子としてBES1/BZR1転写因子ファミリーが働くことを明らかにしてきました(Ref.1)。これらBES1/BZR1転写因子群がどのように幹細胞を制御しているのかを調べるため、*bes1*変異体の表現型を抑圧する変異体(サプレッサー)を単離し、3つの原因遺伝子の同定に成功しました。その中には植物ホルモンや概日時計に関わる遺伝子もあり、幹細胞の維持において想像以上に複雑な制御機構が見えてきました。また維管束幹細胞からの運命決定機構も徐々に明らかになりつつあり、VISUALにおける深部イメージングからAdaxial-Abaxial軸(向背軸)の位置情報が、維管束幹細胞の木部または篩部細胞への分化運命に重要であることを見出しました。更に分子遺伝学解析を進め、Abaxial側で強く発現するYABBY遺伝子が運命決定に関与する可能性を明らかにしました(Ref.2)。このように維管束幹細胞は

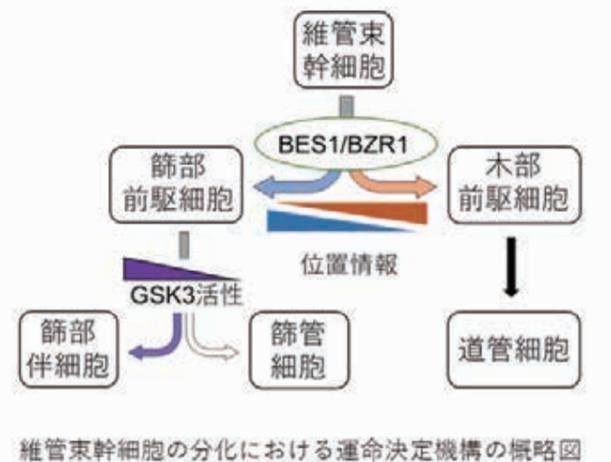
位置情報に従って篩部系譜の細胞に運命を決めますが、その後、篩部前駆細胞は篩管細胞と篩部伴細胞へと運命を決めなければなりません。この運命決定過程においても、新たに篩部伴細胞を人工的に誘導できる分化系VISUAL-CCを確立し、その培地組成をヒントに篩管細胞と篩部伴細胞の運命を切り替える分子スイッチGSK3を発見しました(Ref.3)。このようにVISUALを有効的に活用することで、維管束幹細胞の維持そして分化における一連の運命決定機構の大枠が見えてきました(図)。

### 【今後の展望】

順遺伝学解析により、BES1/BZR1の近傍で幹細胞維持に働く因子がいくつか見つかりました。今後は個々の因子の機能解析を進めることで幹細胞制御機構をネットワークとして統合的に理解することができるようになるかと期待されます。また、位置情報と幹細胞運命との関係性を利用して、Adaxial / Abaxialの領域にわけたレーザーキャプチャーマイクロダイセクション、更には単離プロトプラストによる1細胞レベルでの遺伝子発現解析により、運命決定を担う実行因子を明らかにできると期待されます。将来的には、それらの知見を基にして、維管束細胞の自在創出の実現を目指していきます。

### 【関連する研究成果論文リスト】

1. Saito M, Kondo Y, Fukuda H (2018) BES1 and BZR1 Redundantly Promote Phloem and Xylem Differentiation. *Plant Cell Physiology*, 59(3) 590-600.
2. Nurani AM, Ozawa Y, Furuya T, Sakamoto Y, Ebine K, Matsunaga S, Ueda T, Fukuda H, Kondo Y (2020) Deep Imaging Analysis in VISUAL Reveals the Role of YABBY Genes in Vascular Stem Cell Fate Determination. *Plant Cell Physiology*, in press
3. Tamaki T, Oya S, Naito M, Ozawa Y, Furuya T, Saito M, Sato M, Wakazaki M, Toyooka K, Hiroo Fukuda H, Helariutta Y, Kondo Y (2020) GSK3 activity is a cell fate switch that balances the ratio of vascular cell type. *bioRxiv* doi: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.02.08.939595v1>



## 多能性幹細胞の維持・再生機構の解明

～植物幹細胞とそのゲノムを安定的に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先端科学技術研究科 教授

幹細胞を一定数、適切な状態で維持し続けることは、永続的な植物発生を実現するために不可欠です。私達はシロイヌナズナの根端に存在するコルメラ幹細胞に着目し、この幹細胞が一度しか分裂しない性質を紐解くことにより、幹細胞の数を維持する制御系を解明しようとしています。これまでの研究で、CDKインヒビターの発現抑制が幹細胞性の維持に重要であることがわかってきたので、現在は幹細胞特異的にCDKインヒビターの発現を抑制する仕組みについて研究を進めています。幹細胞に隣接する静止中心(QC)細胞とのコミュニケーションが鍵であることが見えてきており、位置情報を基にした幹細胞の非対称分裂の制御という観点からも新たな知見が得られるものと期待しています。

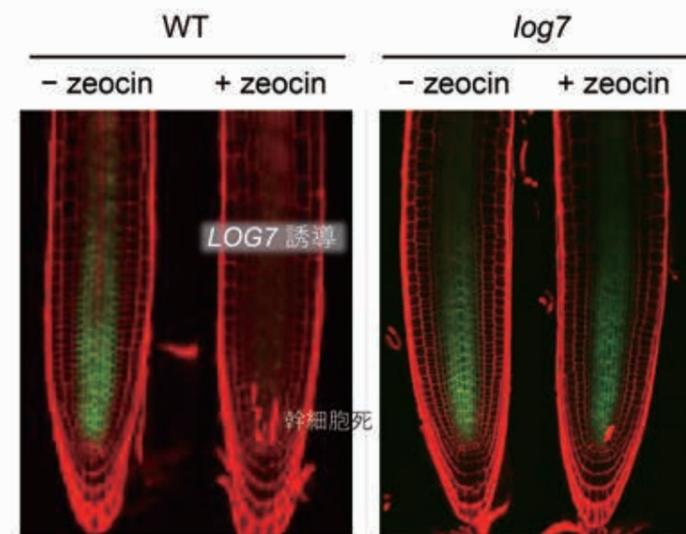
幹細胞は組織形成の源となる細胞なので、そのゲノム恒常性を維持することは、持続的な植物成長を保証する上で重要です。動植物を問わず、細胞の中では常にゲノム複製に伴うDNA損傷が生じていますが、植物は可動性をもたないため、環境ストレスによるDNA損傷も頻繁に生じます。これまでの研究から、シロイヌナズナにDNA損傷を与えると幹細胞が特異的に細胞死を起こすことが知られています。その際、根端ではQC細胞が分裂を活性化させ、新たな幹細胞を創り出します。QC細胞のゲノムは高度に保存されているので、このようなメカニズムによる幹細胞の再生は、幹細胞ゲノムの恒常性を維持する上で非常に有効と言えます。私達は、QC細胞の分裂活性化に、ブラシノステロイド受容体の発現誘導が必要不可欠であることを見出しました。また、そのシグナルの下流で働く転写因子との間でフィードバック

クを形成し、これがホルモンの空間的分布を変化させ幹細胞新生に寄与しているのではないかと考えています。現在、この仮説を検証すべく、様々な解析を進めています。

DNA損傷に応答した幹細胞死の誘導には、オーキシシグナルの低下が重要であることがわかってきました。当初は局所的なAUX/IAA遺伝子の発現誘導が必要だと考えていましたが、最近の研究により、根の移行領域におけるサイトカニン合成酵素遺伝子の発現誘導が細胞非自律的にオーキシシンレベルを制御していることもわかってきました(図参照)。このような組織レベルのホルモン環境の変化はDNA損傷を引き起こすようなストレス条件下で見られますが、通常は十分量のオーキシシンが幹細胞ゲノムの恒常性維持に働き、幹細胞の永続性を支えていると考えられます。現在は、オーキシシンによるゲノム恒常性の維持機構について、クロマチン構造制御の観点から研究を進めています。この制御系は、リプログラミングに伴うクロマチン構造転換およびオーキシシン作用とも関連すると考えており、本新学術領域の他グループとも協力しながら解析を進めています。

### 【関連する研究成果論文リスト】

1. Takahashi, N., Ogita, N., Takahashi, T., Taniguchi, S., Tanaka, M., Seki, M. and Umeda, M. (2019) A regulatory module controlling stress-induced cell cycle arrest in *Arabidopsis*. *eLife* 8, e43944.
2. Umeda, M., Aki, S. S. and Takahashi, N. (2019) Gap 2 phase: making the fundamental decision to divide or not. *Curr. Opin. Plant Biol.* 51, 1-6.
3. Chen, P., Takatsuka, H., Takahashi, N., Kurata, R., Fukao, Y., Kobayashi, K., Ito, M. and Umeda, M. (2017) Arabidopsis R1R2R3-Myb proteins are essential for inhibiting cell division in response to DNA damage. *Nat. Commun.* 8, 635.



図：DNA損傷による幹細胞死の誘導  
DNA二本鎖切断を誘導するゼオシンでシロイヌナズナの根を処理すると、幹細胞特異的に細胞死が起こる(P1染色で赤く染まった部分)。この際、サイトカニン合成酵素の一つであるLOG7をコードする遺伝子が移行領域付近で発現誘導され、サイトカニンシグナルが上がることによりPINの発現が低下する。その結果、基部側から頂端側へのオーキシシン輸送が阻害され、オーキシシンレベルの低下に伴い幹細胞ゲノムが著しく不安定化し、細胞死が起こる。緑色はPIN1-GFPの発現様式を示す。log7変異体ではPIN1の発現低下が起こらず、幹細胞死は誘導されない。

## 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

### 【研究の背景・目的】

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時的に現れます。この時期から樹立された胚性幹(ES)細胞は、様々な分化シグナルを受けて多様な細胞種を産生するため、特徴的なヒストン修飾や染色体構造を有します。また発生初期胚を彷彿とさせるような盛んな細胞分裂を繰り返す特徴があります。不可解なことに、ES細胞ではDNA損傷が生じた時に細胞周期の進行を停止させる機構が緩い(又は欠失している)との報告もあり、どのような機構でゲノム情報を維持しているのか、完全には理解されていません。また、DNA複製中に問題が生じると、DNA複製装置の進行速度が低下することが知られていますが、ES細胞では常にDNA複製速度が低く、その要因は明らかになっていません。個体内の多能性幹細胞が全ての細胞種の源であることをふまえると、遺伝情報は正確に継承される必要があります。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、動物多能性幹細胞特有のシステムをより深く理解しようとしています。

### 【研究成果】

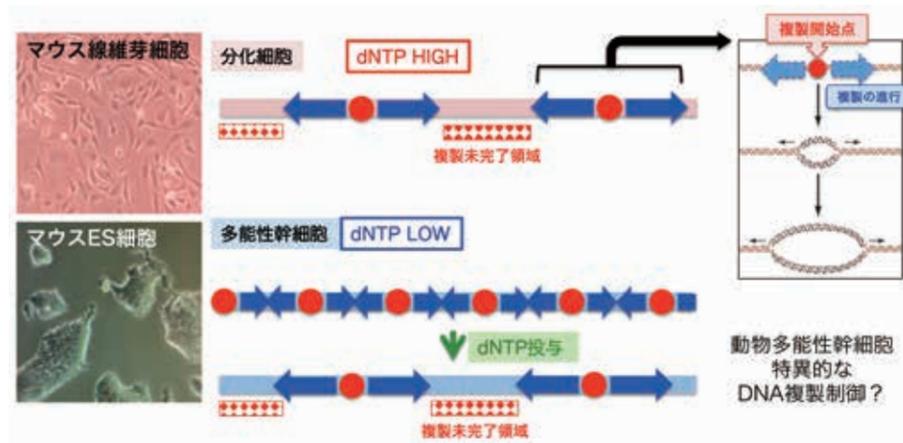
ES細胞のDNA複製装置の進行(DNA合成)が遅い要因として、「DNAの構成単位であるdNTP量の不足」を検討するために、細胞内でdNTP量が増大するよう操作をして、DNA合成速度への効果を測定しました。その結果、ES細胞のDNA合成速度が亢進したことから、dNTP量が律速となってDNA合成が遅延していると考えられました(投稿準備中)。多能性を持たない線維芽細胞では同様の実験であり大きな効果が見られないことから、ES細胞ではよりdNTPが不足していることが分かります。興味深いことに、dNTP量を上昇させると、DNA複製に障害がある際に見られる染色体構造の

出現頻度が増大することが確認されました。DNA複製装置が速く進行するにも関わらずDNA複製に障害があるように見えるのは一見矛盾します。しかし、DNA合成速度を上昇させるとDNA複製開始点の密度が低下することから、速度上昇は必ずしもゲノム全体のDNA複製の完了を促進しないと考えられました。逆に、複製開始点の分布はゲノム上で一様ではないので、疎な領域では開始点のわずかな減少も複製完了に大きな影響を及ぼす可能性があります(図)。

dNTPの増大が及ぼす複製開始点分布への影響をより詳細に調べるために、現在、複製開始点の分布をゲノムワイドにマッピングしようとしています。

### 【今後の展望】

dNTP量を至適レンジに維持することは、正確なDNA複製に必須です。dNTPが不足すれば複製装置が滞りがちになり、不安定なDNA構造を生じがちになります。また、dNTPが過剰な場合は、DNAポリメラーゼが間違ったコードを取り込む可能性が高くなり点変異を導入しかねません。今回の解析から、少なくとも動物細胞では細胞種によってdNTP量が異なるレベルで維持されることが示唆されました。現在私たちのグループでは異なる細胞種間における細胞内のdNTP量を定量しようとしています。細胞種によってdNTPの至適レンジが異なる理由は明らかになっていませんが、特定の細胞種が存在する個体内の環境が、dNTP産生/代謝経路に影響を及ぼす可能性は十分に考えられます。また、dNTP産生はDNA複製期に産生されるように制御されているため、細胞周期のプロファイル(i.e.,分裂速度)でも影響を受けると考えられます。多細胞生物を構成する個々の細胞が特化した役割を果たしつつ、かつDNA複製のような共通したシステムを精度良く機能させるその背景には、まだまだ私たちが知らないしなやかさが潜んでいると考えています。



動物多能性幹細胞  
特異的な  
DNA複製制御?

## 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  
**蓑田 亜希子**  
理化学研究所生命医科学研究センター ユニットリーダー

### 【研究の背景・目的】

組織は複数の細胞種が混在していることから、従来のオミックス手法を用いる場合組織由来のデータは解釈が難しいです。この問題を克服する一つの手段として、それぞれの細胞種特異的なマーカーでソーティングを行った後、オミックス解析などが行われます。しかし、マーカーが適していない可能性もあり(例えばマーカーが複数の細胞種に発現されている場合)、複数の細胞種を解析するには実験に時間を有します。近年開発された1細胞オミックス解析は、実験を行うに当たりマーカーを要しない事からこの様な問題が生じません。しかしながら、1細胞オミックス解析は動物細胞では進んでいるものの、まだ植物に応用されている例は数が少ないです。そこで本領域では、我々の動物細胞での経験を活かし、1細胞オミックス(主にRNA-seq)を植物細胞に応用する事を目的としています。幹細胞が多く存在するメリステム組織にて1細胞オミックス解析を行い、細胞種特異的な遺伝子マーカーを同定し、更にそれらのマーカーをイメージングすることにより(豊岡チームとの連携)、細胞種(特に幹細胞)の位置情報を同定する事を目標としています。1細胞RNA-seqデータは幹細胞の発現情報のみならず、組織に存在するほとんどの細胞種の発現情報も同時に得られる事から、細胞種間の関係(例えば分化過程)を予想する事も可能であり、情報豊かなリソースにもなる事を期待しています。

具体的にはまずシロイヌナズナ根端の1細胞RNA-seqおよびATAC-seqを介した幹細胞解析を行う事を目標として掲げています。同時にPSAC活動の一環として1細胞オミックスの支援を複数のグループにも提供します。

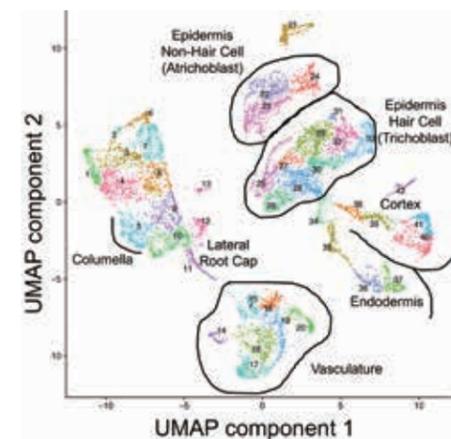


図1: 1細胞ライブラリ作製機器の比較  
Chromium, NadiaおよびiCell8で作製されたシロイヌナズナ根端の1細胞RNA-seqデータの比較。細胞数に偏りがあるものの、3手法にてほとんどの細胞種が共通に見られる。

### 【研究成果】

現在3つの1細胞オミックスライブラリ調整機器を用いシロイヌナズナ根端の解析を進めています: Chromium (10x Genomics)・Nadia (Dolomite Bio)・iCell8 (Takara Bio-Wafergen)。ChromiumとNadiaはマイクロフルイティクス内で細胞と細胞溶解液およびRNA分子のバーコード化に必要なビーズをドロプレット内に収めるドロプレット式で、数千細胞の1細胞RNA-seqライブラリ作製が可能です。iCell8はナノチップに細胞を分注し約1600細胞からの1細胞RNA-seqライブラリ作製が可能です。データ作製は終わりこれらのデータを現在解析中です。3つの機器を使用する事でそれぞれの強みと弱みを理解し、各植物モデル細胞に適した機器の選択をしたいと思えます。既に複数の共同研究が走っていますが、良質なデータ作製には時間がかかります。少しずつウェット・ドライ双方を共同研究者の方達と共に改善していき、皆さんの研究を飛躍出来る結果に繋げていければと思います。

### 【今後の展望】

現在は主に1細胞RNA-seqのデータ作製および解析を行っていますが、今後は1細胞ATAC-seqあるいはバルクでのATAC-seqをシロイヌナズナや他モデルでも行う予定です。1細胞マルチオミックス解析を介し、植物の強い生命力の秘訣の一つに植物幹細胞におけるクロマチン制御が大切だという仮説のもと、研究を進めていきたいと思えます。

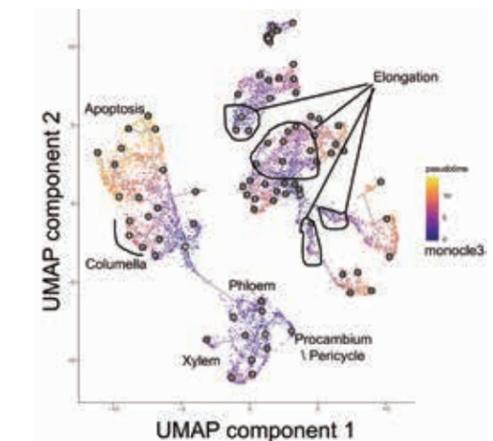


図2: 1細胞RNA-seqデータのトラジェクトリー解析  
Chromiumのデータを用いトラジェクトリー解析(Monocle3)を行った結果、細胞種間の関係(分化過程)がデータ上可視化された(あくまでもデータに基づく予想)。

# A02 計画研究班

## 長寿命樹木にみられる幹細胞ゲノムの多様性分析



研究代表者 佐竹 暁子 九州大学大学院 理学研究院 教授  
 研究分担者 陶山 佳久 東北大学大学院 農学研究科 准教授  
 研究分担者 谷 尚樹 国際農林水産業 研究センター 主任研究員

### 【研究の背景・目的】

細胞に格納されたDNAは常に複製エラーや紫外線による損傷にさらされているため、同一個体であってもゲノムDNAの体細胞間変異が存在します。ゲノムDNAの体細胞変異の存在は、次世代シーケンサーの出現によって実証可能になってきました。一般に動物では、受精後のわずかな期間にのみ、細胞が全身のすべての細胞を作り得る能力をもちます。それに対して、幹細胞が体内に分散して存在し各器官の自律性を示す植物では、幹細胞の多能性を永続的に維持するため幹細胞に生じた変異は様々な組織に伝搬し、次世代へも受け継がれます。近年、長寿命樹木においてこのゲノム体細胞間変異の蓄積パターンについて、定量的なデータが得られるようになってきました。しかし植物の寿命の長さや変異蓄積量およびDNA修復能力に関係があるのかは、ほとんどわかっていません。さらに、温帯と熱帯などDNA損傷の変異原量の異なる環境では個体内変異蓄積量に顕著な違いがあるのかは未解明のままです。本研究はこれらの問題の解明に挑戦します。

### 【研究成果と今後の展望】

2020年度の成果として、まずDNA修復に関わる酵素など突然変異率に大きな影響を及ぼすと考えられる遺伝子を植物種間で比較した結果を報告します。樹木13種と草本16種において、DNA修復に関わる144の遺伝子ファミリーにおいてそれぞれのコピー数を取得し種間で比較したところ、ほとんどの遺伝子において樹木

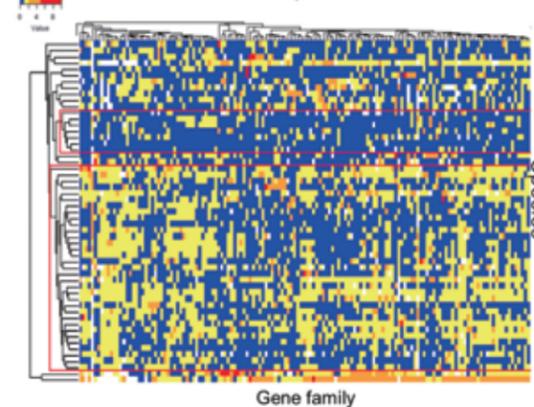
と草本の間で差はみられませんが、相同組み換え修復に関するBRCA1と塩基除去修復を担うPARPでは樹木のほうが有意にコピー数が多いことがわかりました。これは、樹木において生じた遺伝子重複によって一部の相同組み換え修復と塩基除去修復の効率が高まっている可能性を示唆する結果です。

DNA損傷応答・修復に関わる152遺伝子の発現量変化を温帯地域に生息するブナ科樹木においてモニタリングしたところ、BRCA1は4~5月にだけ高く発現していますが、二本鎖DNA切断に反応するATMは7~8月に、一本鎖DNA切断に反応するATRは2~3月に最も発現が高いという違いが見られました。非相同組み換え修復に重要な役割を果たすKU70およびKU80の発現は、種間で大きく季節応答性が異なっていました。こうしたDNA損傷応答・修復に関わる遺伝子発現の動的変化は、細胞分裂速度の季節性、紫外線や乾燥など外的環境の季節変化に対する応答であると考えられます。残りの研究期間では、熱帯地域に生息する樹木にも対象を広げ、年中紫外線量と温度が高い環境でDNA損傷応答・修復遺伝子はいつ発現しているのか、突然変異の蓄積は熱帯樹木では温帯樹木より顕著に高いかどうか、を明らかにします。

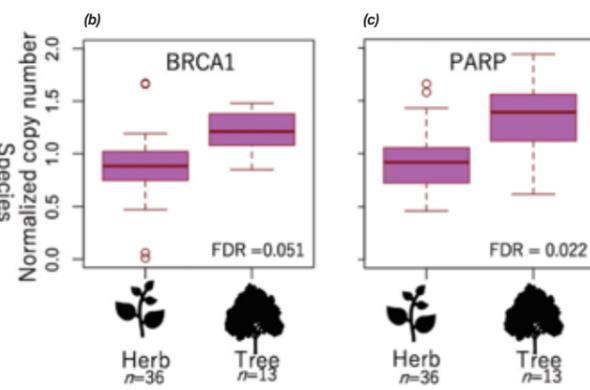
### 【関連する研究成果論文リスト】

Satake, A., Kawatsu, K., Teshima, K., Kabeya, D., & Han, Q. (2019). Field transcriptome revealed a novel relationship between nitrate transport and flowering in Japanese beech. *Scientific reports*, 9, 1-12.

(a) Normalized copy number of 144 gene family in 53 species



図a: 144個のDNA修復遺伝子コピー数の類似性を樹木と草本を含んだ53種において比較した結果。



図b: 樹木と草本におけるBRCA1コピー数の比較。

図c: 樹木と草本におけるPARPコピー数の比較。

# A01 公募研究班

## 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

よく植物は再生能力が高いと言われます。実際、様々な刺激に応じて器官を再生する現象が、多くの植物で知られています。こうした再生の鍵を握るのは、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です。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(一般に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。

私たちは長く、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発見しました。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ことが想定されます。本研究ではこれを踏まえ、内生IAAの作用とBTAF1の機能を糸口に、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。

これまでの研究により、内生IAAのシュート再生能抑制作用については、不定根形成の促進と連関していること、IAAの生成だけでなく極性輸送も関与していること、IAA生成阻害剤は通常条件ではCIM培養初期の投与が有効であることなどがわかってきました。また、IAA生成阻害とCIM培養期間を組み合わせるとシュート再生能が様々に異なるカルスをつくり、RAM関連遺伝子やオーキシシン応答関連遺伝子の発現を調べて、シュート再生能と正の相関を示す遺伝子として*LBD16・18*と*PLT7*、負の相関を示す遺伝子として*IAA32~34*を見出しました。今後はこれらの遺伝子の空間的発現パターンや分子機能と内生IAAとの関係を軸に、RAM型幹細胞の新生と状態制御を追究していく予定です。

BTAF1については、SIMで培養した*rgd3*変異体と野生型の外植片のトランスクリプトーム解析により、*rgd3*変異がRAM関連遺伝子の発現低下には影響せず、SAM関連遺伝子の発現上昇を強く抑えることが明らかになりました。この結果は、幹細胞ニッチがRAM型を脱した後、SAM型に転換するまでの過程に、BTAF1が関わることを示唆しています。また、*rgd3*に新たに突然変異を誘発し、多数の*rgd3*抑圧変異体候補株を得ました。今後は*rgd3*抑圧変異体の解析によるBTAF1制御系の因子の遺伝学的同定と、*rgd3*変異体および*rgd3*抑圧変異体を用いたより詳細な遺伝子発現解析を推進し、幹細胞ニッチの転換がどのように起きるのかを、BTAF1の分子ネットワークを足場に解き明かしていきたいと考えています。

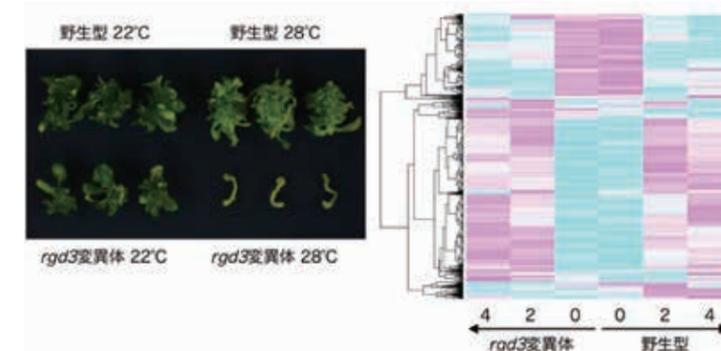


図: *rgd3*変異体を用いたシュート再生過程のトランスクリプトーム解析  
 左は、IAA生成阻害剤のPPBoを30 μM含むCIMに野生型と*rgd3*変異体の胚軸断片を置床して22°Cで1週間培養した後、SIMに移植して22°Cまたは28°Cで3週間培養したときの様子。右は、同様に30 μMのPPBoを含むCIMで野生型と*rgd3*変異体の胚軸断片を培養した後、SIMに移植して28°Cで培養したときのトランスクリプトームデータをヒートマップで示したもの。数字はSIM移植後の日数。

## 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

金沢大学理工研究域生命理工学系 教授

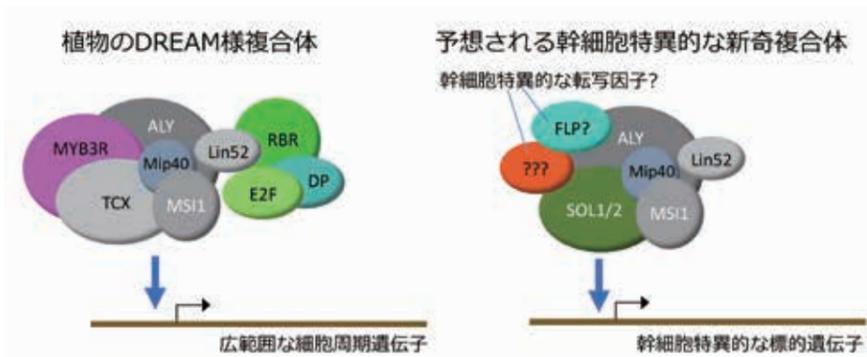
### 【研究の背景・目的】

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。シロイヌナズナの気孔前駆細胞は限られた回数の非対称分裂を行うことにより、分化細胞を生み出すことから、一過的な幹細胞と見なすことができます。これまでに私たちは、特定の細胞周期因子が変異すると、気孔前駆細胞の分裂パターンや細胞運命決定に特徴的な異常が生じることを観察しています。本研究では、これらの観察を出発点として、気孔前駆細胞の非対称分裂における細胞周期制御や細胞運命決定のメカニズムにアプローチします。

### 【研究成果と今後の展望】

#### 非対称分裂におけるAPC/C阻害タンパク質の役割

APC/CはサイクリンなどのM期タンパク質を分解へと誘導することが知られるユビキチンリガーゼ複合体です。APC/C活性を負に制御するGIG1タンパク質の変異体では、孔辺細胞とペイブメントセルの両方の性質を併せ持つ特徴的な細胞 (mixed-fate cell) が生じることを明らかにしています。この表現型の分子メカニズムを明らかにすることができれば、非対称分裂における細胞運命決定の本質的な仕組みの理解に繋がる可能性があると考えています。シロイヌナズナ *gig1* 表現型を促進、あるいは抑圧する複数の変異体の解析から、mRNAの核外輸送がAPC/C活性を通じた細胞周期制御に密接に関連している様子が示されてきました。つまり、植物の非対称分裂には、mRNAの選択的な核外輸送制御が関わる特有の仕組みが存在する可能性があります。今後、このような可能性の検証と輸送制御を受けるmRNAの特定に向けた研究を行う予定です。



図：細胞周期制御に関わる主要な転写因子E2FとMYB3Rの両方を含むタンパク質複合体 DREAM complex が知られています。シロイヌナズナのDREAM complexは、器官発生における細胞増殖や増殖の停止に広く関わっていると考えられています。DREAM complexのコア因子TCXファミリーには幹細胞において特徴的に発現するメンバー (SOL1とTCX2) が存在することから、シロイヌナズナのDREAM complexには、広範囲に発現する主要な複合体のほかに、幹細胞特異的なバリエーションが存在し、幹細胞における増殖や分化を制御している可能性があります。

### 気孔前駆細胞におけるDREAM複合体の機能

DREAM複合体は、MYB3RやE2Fなどの転写因子を含む大きなタンパク質複合体であり、細胞周期遺伝子の転写を統合的に制御する働きを持つと予想されています。e2f多重変異体の表現型を観察した結果、この複合体が気孔前駆細胞における分裂や分化のパターンに寄与している可能性が考えられました。気孔前駆細胞で特異的に発現するDREAM複合体構成因子 (SOL1, TCX2) の二重変異体では、気孔前駆細胞の分裂が過剰となり、気孔形成に特徴的な異常が観察されます。また、SOL1は気孔前駆細胞だけではなく、根端幹細胞においても発現が確認されることから、種々の植物幹細胞に共通する仕組みに関わっている可能性が考えられます。R2R3-Myb転写因子をコードするFLPは*sol1 tcx2*二重破壊株とよく似た表現型を示すこと、さらに*flp*変異と*sol1 tcx2*二重変異はsynergisticな遺伝学的関連性を示すことから、FLPを構成因子として含むDREAM様の新奇複合体が存在し、植物幹細胞に共通する非対称分裂の制御に関わっている可能性があります。今後、DREAM複合体や新奇複合体の全容を生化学的に明らかにするとともに、多重変異体を用いた機能解析や網羅的な遺伝子発現解析により幹細胞分裂における役割を解明したいと考えています。

### 【関連する研究成果論文リスト】

- Olszak M, Truman W, Stefanowicz K, Sliwinska E, Ito M, Walerowski P, Rolfe S, Malinowski R. (2018) Transcriptional profiling identifies critical steps of cell cycle reprogramming necessary for *Plasmodiophora brassicae*-driven gall formation in *Arabidopsis*. *Plant J*. 97: 715-729. doi: 10.1111/tj.14156.
- Luo L, Takahashi M, Kameoka H, Qin R, Shiga T, Kanno Y, Seo M, Ito M, Xu G, Kyozuka J. (2019) Developmental analysis of the early steps in strigolactone-mediated axillary bud dormancy in rice. *Plant J*. 97: 1006-1021. doi: 10.1111/tj.14266.

## 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。私たちの注目している気孔は、葉の発生にともない気孔幹細胞 (メリステモイド母細胞) の非対称分裂を経て形成されます。通常、気孔幹細胞の非対称分裂では、メリステモイド細胞とSLGC細胞の2種類の異なる娘細胞が生み出されます。私たちの同定した低分子化合物Bubblinは、この非対称分裂をかく乱し、両方の娘細胞がメリステモイド細胞となり、最終的に気孔クラスターが形成されます (図A)。本研究では、Bubblinの作用機序を調べることで、気孔幹細胞の極性形成と非対称分裂の仕組みの解明を目指しています。

気孔幹細胞が非対称分裂をする際に、極性因子BASLが細胞膜の特定の領域に偏在化します。分裂後もBASLが偏在化しているSLGC細胞では、メリステモイド細胞の幹細胞性の保持に必要なマスター転写制御因子であるSPCHがMAPキナーゼカスケードによりリン酸化を受け分解されます (図B)。一方、メリステモイド細胞ではSPCHが安定に存在することで気孔形成能を維持します。Bubblinが非対称分裂をかく乱するとき、BASLの偏在化とSPCHの分解の両方のステップが阻害されていることが判明しています (図B)。

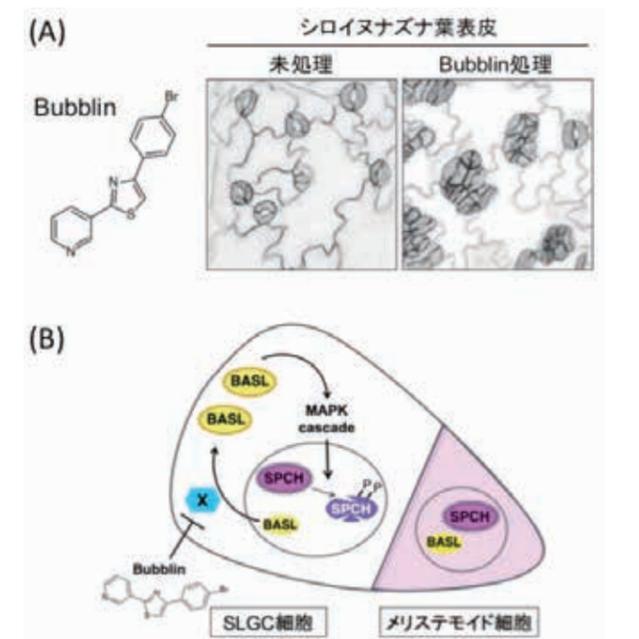
本研究では、Bubblinの標的因子の同定を目指し、遺伝学的解析と生化学的解析の2つのアプローチから迫っています。遺伝学的解析ではBubblinに対する感受性の異なる2種類のシロイヌナズナ野生型系統を用い、次世代シーケンサー解析等によりBubblin感受性の違いを生み出す責任遺伝子の同定を行っています。現在、有力な標的因子候補を見出し、確認作業を行っています。これにより気孔幹細胞の極性形成と非対称分裂の仕組みの一端が明らかになることが期待されます。生化学的解析では様々なBubblin誘導体を合成し、気孔形成への影響を調べています。興味深いことに、特定のBubblin誘導体では大きな気孔クラスターは形成されず、気孔インデックス (全表皮細胞に占める気孔の割合) を上昇させるものが見つかりました。これらの誘導体は気孔とその他の表皮細胞のバランスを変化させていることから、非対称分裂に関わっている可能性があります。

ここで気孔幹細胞と呼んでいるメリステモイド母細胞は、気孔の幹細胞であるとともに通常の表皮細胞 (敷石細胞) の幹細胞としても捉えることもできます。葉という器官全体を見渡せば、気孔と敷石細胞の数的なバランスを調整することは、葉を大きくしたり環境に適応

したりするために重要です。本研究で得られる成果は、気孔形成の理解に留まらず、植物の環境応答における非対称分裂の重要性や、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。

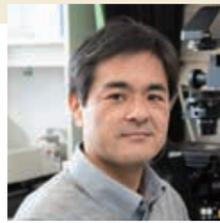
### 【関連する研究成果論文リスト】

- Sakai et al. (2017) The hemical compound bubblin induces stomatal mispatterning in *Arabidopsis* by disrupting the intrinsic polarity of stomatal lineage cells. *Development*, 144, 499-506.
- Shimada et al. (2018) Plant Vacuoles. *Annu Rev Plant Biol.*, 69, 123-145.
- Ishikawa et al. (2018) Synaptotagmin-associated endoplasmic reticulum-plasma membrane contact sites are localized to immobile ER tubules. *Plant Physiol.*, 178, 641-653.
- Shimada et al. (2018) The AP-1 complex is required for proper mucilage formation in *Arabidopsis* seeds. *Plant Cell Physiol.*, 59, 2331-2338.
- Nakazaki et al. (2019) Leaf endoplasmic reticulum bodies identified in *Arabidopsis* rosette leaves are involved in defense against herbivory. *Plant Physiol.*, 179, 1515-1524.
- Maeda et al. (2019) Identification of periplasmic root-cap mucilage in developing columella cells of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.*, 60, 1296-1303.
- Shimada et al. (2019) HIGH STEROL ESTER 1 is a key factor in plant sterol homeostasis. *Nature Plants*, 5, 1154-1166.
- Ishikawa et al. (2020) Structural and functional relationships between plasmodesmata and plant endoplasmic reticulum-plasma membrane contact sites consisting of three synaptotagmins. *New Phytol.*, doi: 10.1111/nph.16391.



# A01 公募研究班

## 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所 准教授

### 【研究の背景・目的】

コケ植物は孢子が発芽すると、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をすると、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（孢子発芽期）。ある時点で頂端細胞と呼ばれる多能性をもった幹細胞が生じ、それを起点とした頂端成長と呼ばれる発生様式に切り替わることで、3次元的な体軸をもった葉状体が形成されます。我々は、孢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、頂端細胞は孢子発芽体以外の細胞を生み出す分化多能性状態にある、との仮説を立て研究を進めています。

植物ホルモンであるオーキシンの信号伝達を阻害すると、孢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。被子植物も胚発生の過程で新規に幹細胞を形成し、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が、その具体的な仕組みについては不明な点が多く残されています。本研究では、ゼニゴケにおける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。

### 【研究成果】

オーキシンの信号伝達を阻害したオーキシン応答欠損株は細胞塊になります。この細胞における遺伝子発現をRNA-seq解析により調べると、確かにオーキシン応答遺伝子の数が激減していました。また、孢子発芽体細胞と比べて、オーキシン応答欠損株で発現が低下した転写因子遺伝子には細胞分化に関わるものが、発現が上昇した転写因子遺伝子には幹細胞に関わるものが複数含まれていました。このことから、オーキシン応答欠損株は幹細胞性の集団であることが示唆されました。

続いて、オーキシン応答が、幹細胞の形成や制御にどのように関わっているのかについて調べました。ゼニゴケに1分子種ずつ存在する転写活性化型ARFと転写抑制型ARFは、幹細胞形成において拮抗的に機能することがわかりました。また、どちらの転写因子も、プロモーター活性、タンパク質蓄積ともに幹細胞領域ではその周辺に比べ低く抑えられていました。別に単離していた、細胞塊となり低いオーキシン応答性を示す変異体においてオーキシン応答を促進させる遺伝的操作をすると、葉状体形成を再開することも明らかになりました。さらに、幹細胞領域で特異的に発現する転写因子を同定することができました。この遺伝子はオーキシン処理により発現が低下し、

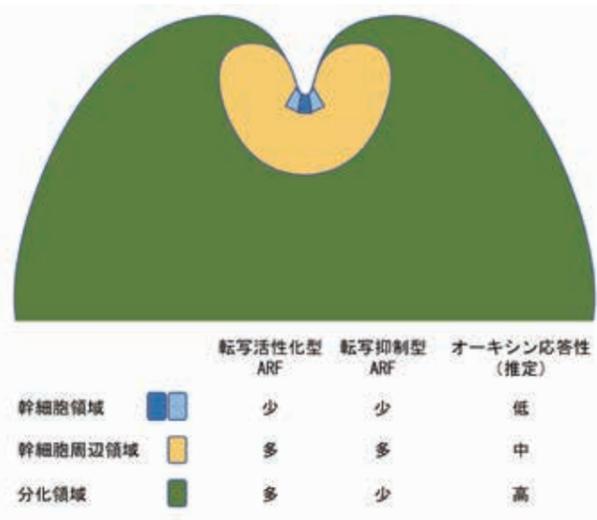
オーキシン応答を阻害すると発現が増大することがわかりました。以上の結果から、多能性幹細胞は異なるオーキシン応答性をもつ領域を区別することで形成され、低いオーキシン応答性をもつ領域が多能性幹細胞として機能することが示唆されました（図参照）。

### 【今後の展望】

オーキシン応答欠損株などにおける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、また1細胞解析により幹細胞で特異的に発現する遺伝子を同定することで、幹細胞の特徴をさらに解明していきたいと考えています。陸上植物に保存されたオーキシンによる幹細胞形成原理の理解が進むと期待されます。

### 【関連する研究成果論文リスト】

- Koide, E. et al. (2019) Regulation of photosynthetic carbohydrate metabolism by a Raf-like kinase in the liverwort *Marchantia polymorpha*. *Plant Cell Physiol.* pcz232.
- Naramoto, S. et al. (2019) A conserved regulatory mechanism mediates the convergent evolution of plant shoot lateral organs. *PLoS Biol.* 17: e3000560.
- Yasui, Y. et al. (2019) GEMMA CUP-ASSOCIATED MYB1, an orthologue of axillary meristem regulator, is essential for vegetative reproduction in a liverwort *Marchantia polymorpha*. *Curr. Biol.* 29: 3987-3995.
- Aki, S.S. et al. (2019) Cytokinin signaling is essential for organ formation in *Marchantia polymorpha*. *Plant Cell Physiol.* 60: 1842-1854.
- Hirakawa, Y. et al. (2019) Control of proliferation in the haploid meristem by CLE peptide signaling in *Marchantia polymorpha*. *PLoS Genet.* 15: e1007997.



図：ゼニゴケの幹細胞領域とオーキシン応答性の関係

## 細胞壁が制御する幹細胞の運命決定機構の解明

～ツノゴケゲノム解読から読み取る陸上植物の形作りの多様性～



研究代表者  
榊原 恵子  
立教大学理学部 准教授

私たちはアメリカ・Boyce Thompson InstituteのFay-Wei Li博士、スイスZurich-Basel Plant Science CenterのPeter Szövényi博士のグループとの国際共同研究により、ツノゴケ類2種3系統のゲノムを解読しました。ツノゴケゲノムはすでに公開されているゼニゴケやイヌカタヒバのゲノムと同様、大規模なゲノム重複の形跡がないシンプルなゲノムを持つことがわかりました。それにもかかわらず、幹細胞形成に寄与する転写因子であるWOX遺伝子はツノゴケゲノム中に4個存在しました。コケ植物のWOX遺伝子はゼニゴケから1遺伝子、ヒメツリガネゴケから3遺伝子が報告されており、ツノゴケの4遺伝子というのはコケ植物で最も多いものでした。4個の遺伝子のうち3個は配偶体と孢子体の両方で発現しており、この特徴は新規幹細胞形成を介して再生に寄与しているヒメツリガネゴケWOX遺伝子と類似しています。ツノゴケ類*Anthoceros agrestis*もヒメツリガネゴケと同様、高い再生能力を持ちます。これらの遺伝子がツノゴケの再生にも寄与しているのか、興味深いと考えています。

また、ツノゴケは他のコケ植物と異なり、孢子体の基部に持続的な分裂組織を持つので、同じく持続的な分裂組織を持つ維管束植物の孢子体との類似性が指摘されていました。そのため、ツノゴケが維管束植物に近縁であるとする説もありました。維管束植物の孢子体の分裂組織の維持に機能する遺伝子の一つにKNOX1遺伝子がありますが、今回の研究成果からツノゴケゲノムではKNOX1遺伝子が欠失していることがわかりました。ツノゴケ孢子体の持続的な分裂組織は維管束植物とは違う機構で制御されており、独自に形成されたものと考えられます。私たちは*Anthoceros agrestis*の形質転換にも成功しており、今後、これらの遺伝子の違いがどのように形態の多様性に寄与しているかを調べていきたいと考えています。

### 【関連する研究成果論文リスト】

- Li, F.-W., Nishiyama, T., Waller, M., Frangedakis, E., ..., Shimamura, M., Rensing, S. A., Villarreal, J. C., Weijers, D., Wicke, S., Wong, G. K.-S., Sakakibara, K., Szövényi, P. (2020) "Anthoceros genomes illuminate the origin of land plants and the unique biology of hornworts." *Nature Plants*, in press.



図：ツノゴケ *Anthoceros agrestis* の概要。Eftychios Frangedakis 撮影。

# A01 公募研究班

## 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

### 【研究の背景・目的】

陸上植物は、環境にตอบสนอง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。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ます。そのため分化細胞を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、その分子機構についてはよく分かっていません。私たちの研究グループでは、ヒメツリガネゴケからSTEMIN1と名付けた転写因子を茎葉体に発現させるだけで葉細胞を幹細胞へと変化させることを発見しています。そこでSTEMIN1転写因子が、どのような因子や経路を活性化してクロマチン修飾変化を誘導するのか、その分子機構の解明を目指しました。

### 【研究成果】

#### (1) 幹細胞誘導転写因子STEMIN1の発見とその機能解明

ヒメツリガネゴケから幹細胞誘導因子STEMIN1を発見し、STEMIN1直接標的遺伝子の多くは、転写抑制に機能するヒストンH3K27me3修飾が局在しているが、STEMIN1の発現後、細胞分裂前にその修飾レベルが特異的に低下することを発見しました (Ishikawa et al., 2019)。

#### (2) 幹細胞化におけるDNA修復系の関与

STEMIN1の発現による幹細胞化において、DNA修復に機能するXRCC1遺伝子が必要であることが分かりました。また、DNA鎖を切断する薬剤で一過的に葉を処理すると、STEMIN1とそのホモログ依存的に幹細胞化が誘導されることを発見しました (Gu et al., under revision)。

#### (3) オーキシンレベル低下による幹細胞化誘導の可能性

幹細胞化している細胞はオーキシンレベルを低い状態に維持していたため、オーキシン不活性化酵素GH3を茎葉体に異所的に発現させたところ、STEMIN1プロモーター活性が上昇しました。これらのことから、オーキシンレベルの低下が幹細胞化を誘導する可能性が示唆されました。

#### (4) マイクロマニピュレーションを用いた1細胞遺伝子発現解析系の確立

マイクロマニピュレーションを用いた1細胞遺伝子発現解析系を確立し、ヒメツリガネゴケの幹細胞化に関わる6,382個の発現変動遺伝子を見出すとともに、幹細胞に変化する細胞と変化しない細胞の集団の特定に成功しました (Kubo et al., 2019)。

### 【今後の展望】

オーキシンは、陸上植物の発生のあらゆる局面で機能するだけでなく、クロマチン構造を変化させ、ゲノムを安定化させる働きもあります。そこでSTEMIN1発現誘導によって活性化されるとされるDNA修復系に加えて、幹細胞化におけるオーキシンの役割を明らかにすることで、陸上植物全体の幹細胞化におけるクロマチン修飾を変化させる共通分子機構の理解に繋がることが期待されます。

### 【関連する研究成果論文リスト】

1. Ishikawa, M. et al. Physcomitrella STEMIN transcription factor induces stem cell formation with epigenetic reprogramming. (2019) *Nat. Plants* 5, 681-690.
2. Kubo, M. et al. Single-cell transcriptome analysis of Physcomitrella leaf cells during reprogramming using microcapillary manipulation. (2019) *Nucleic Acids Res.* 45, 693-715.



図：ヒメツリガネゴケの茎葉体にSTEMIN1転写因子を発現させると、葉細胞が原系体幹細胞へと変化し原系体が再生する。

## 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

### 【研究の背景・目的】

単離した葉の一つの細胞から植物体を再生させた歴史的な研究から、植物細胞は一度分化した後でも、全ての幹細胞を新生できることが証明されています。この幹細胞新生の能力は、自然界においても試験管内でも、非生物ストレス、特に傷害ストレスが引き金になることが多いのですが、その分子メカニズムはよく分かっていません。この研究では、ストレスで誘導され組織の再生に関する転写因子に着目し、植物の幹細胞新生のメカニズムを明らかにします。

### 【研究成果】

様々な遺伝子の発現をONにするスイッチタンパク質 (転写因子) の一つであるWIND1は、傷害ストレスによって傷口で発現量が上がります。WIND1の量を調節する発現誘導系を用いた実験から、WIND1の量を段階的に増やすことのみで、組織片からカルス (多能性を持った細胞塊) が誘導できるだけでなく、茎葉や根の再生を誘発できることを発見しました (成果1)。これは、組織片からの幹細胞新生が単一の転写因子の発現量によって調節できることを示しています (図1)。実際WIND1遺伝子が発現させた時に、どのような遺伝子発現の変化が起きるか調べたところ、茎葉や根の幹細胞の動きや胚発生に必須な様々な遺伝子の発現がWIND1と共に上昇することを見出しました (投稿準備中)。つまりWIND1の制御下には、幹細胞を再形成させるための分子ネットワークが存在していることを示しています。これらの幹細胞関連遺伝子のDNA領域の多くは、通常、異所的に発現しないように、ヒストンタンパク質の化学修飾によって強く巻きつくように制御されています (成果2)。そこで、傷害ストレスによってヒストンタンパク質の化学修飾がどのように変化するか検討したところ、傷を受けた組織では、ヒストンタンパク質のアセチル化が促進することを発見しました (成果3)。また予備的な実験から、WIND1の発現

によってもヒストンタンパク質のアセチル化レベルが変化することを見出しています。これらの結果は、傷害ストレスがクロマチン構造を緩め、遺伝子発現をしやすい状態に変化させていることを示唆し、その制御にもWIND1が関与することを予見させるものです。

### 【今後の展望】

WIND1がどのように幹細胞の新生を行っていくのかについて、これまで培ってきた2つの実験系を用いた研究を進めます。1つは、WIND1の発現誘導系で見られる再生現象ですが、特に不定胚形成に注目します。不定胚は、体細胞から生じる胚のことで、言わば植物体が有する全ての幹細胞を作り直す過程です。この時に、ヒストンタンパク質の化学修飾の変化がどのように作用について明らかにしていきます。2つ目として、傷害部位に生じるカルスの中でどのように幹細胞が作られていくのか、シングルセル解析法などを駆使して明らかにしていきたいです。これには、WIND1の直接下流因子として機能するESR1転写因子の過剰発現植物体を利用します。この植物体では、傷口のカルスから根と茎葉の両方の幹細胞新生が外因性の植物ホルモンの添加なしで起こります。幹細胞化する細胞がどのような細胞から生じるのか、根の幹細胞新生と茎葉の幹細胞新生を生み出す要因は何なのか明らかにしていきたいと思えます。

### 【関連する研究成果論文リスト】

1. Iwase A, Mita K, Favero DS, Mitsuda N, Sasaki R, Kobayashi M, Takebayashi Y, Kojima M, Kusano M, Oikawa A, Sakakibara H, Saito K, Imamura J, Sugimoto K (2018) WIND1 induces dynamic metabolomic reprogramming during regeneration in Brassica napus. *Dev. Biol.* 442:40-52
2. Ikeuchi M, Favero DS, Sakamoto Y, Iwase A, Coleman D, Ryman B, and Sugimoto K (2019) Molecular mechanisms of plant regeneration. *Annu Rev Plant Biol.* 70:377-406
3. Ryman B, Kawamura A, Lambolez A, Inagaki S, Takebayashi A, Iwase A, Sakamoto Y, Sako K, Favero DS, Ikeuchi M, Suzuki T, Seki M, Kakutani T, Roudier F, Sugimoto K (2019) Histone acetylation orchestrates wound-induced transcriptional activation and cellular reprogramming in Arabidopsis. *Commun. Biol.* 2:404.



図：35S:WIND1-GRナタネ植物の胚軸切片を、発現誘導剤 (DEX) を含む植物ホルモンフリー培地で培養しました。弱い誘導ではカルス形成と共に茎葉の再生が、より強い条件では主に根の再生が起こります。1つの転写因子の誘導で、カルス化と、引き続いて起こる幹細胞新生の方向性が制御できることが明らかになりました。

# A01 公募研究班

## 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

### 【研究の背景・目的】

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です。寄生植物は、「吸器」と呼ばれる寄生器官を作り、寄生される宿主植物の組織へ侵入し、維管束をつなげて水や栄養分を獲得します。吸器の形成は、フェノール酸やキノンなどの化合物によって誘導されることが知られておりますが、吸器誘導の化合物が存在しても宿主植物が近傍にいない条件下では、吸器はあまり伸長せず小さなコブを作るのみです。つまり、寄生植物は近傍に宿主がいないことを認識し、吸器の伸長を抑制する機構を持っていると考えられます。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から、宿主が近傍にいないにも関わらず吸器が長く伸びる変異体を単離しました。また、この変異体では、宿主植物に到達しても、中に侵入できないことを見つけた。つまり、この変異体では、吸器を伸ばすか宿主に侵入するかという吸器の幹細胞の運命転換の制御に異常が生じていると考えられました。そこで、この変異体の解析を通して、吸器幹細胞の運命を決定する分子機構に迫りたいと考えています。

### 【研究成果】

私たちはまず、吸器が長く伸びる変異体のゲノムシーケンスをおこなうことにより、その原因遺伝子を同定しました。その結果、この変異体では、植物ホルモンであるエチレンのシグナル伝達に関わる遺伝子に異常が生じていることが明らかになりました。エチレンを植物にかけると根が短くなり、胚軸が太くなるなどの表現型が見られますが、この変異体では、エチレンをかけても根の長さが短くならなかったため、エチレン非感受性変異体であることが分かりました。また、野生型のコシオガマにエチレンの阻害剤を処理すると、変異体のような長い吸器ができたことから、エチレンが吸器の伸長を制御するシグナルになっていると考えられました。

次に、どうやって吸器が伸びるのかを解析しました。吸器の先端部分には、小さな細胞が集まっている箇所があり、ここが吸器のメリステムであると考えられました。野生型の吸器では、宿主がいない条件だと、このメリステム領域の細胞分裂活性は誘導後2日でほぼなくなるのに対し、変異体では4日目まで分裂活性が確認できました(図1)。また、吸器の先端部分ではオーキシン応答が活発になっており、変異体では野生型に比べてオーキシン応答が長く続いていることが分かりました。このことから、吸器の先端部におけるオーキシン応答と細胞分裂活性の維持が吸器の伸長に関わっていることが示されました。

さらに、野生型と変異体の吸器でRNA seq解析をすることにより、どのような遺伝子が吸器の伸長に関わっているかを調べま

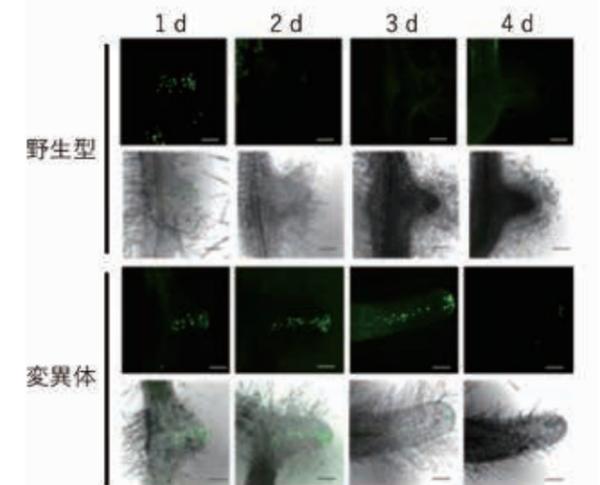
した。その結果、変異体ではオーキシンの合成や応答に関わる遺伝子の発現が野生型よりも持続すること、タンパク質翻訳や微小管の再構成に関わる遺伝子が強く発現していることが明らかになりました。

### 【今後の展望】

今後は、変異体の吸器がなぜ宿主に侵入できないのか、という疑問を解くために、宿主に侵入する際の遺伝子発現の変化を解析します。変異体が、オーキシン応答や細胞分裂活性を止める仕組みを失ったために、幹細胞の運命転換ができなくなったのか、それとも吸器の伸びと侵入は別の仕組みによっているのか、について明らかにしたいと考えています。

### 【関連する研究成果論文リスト】

1. Yoshida, S., Kim, S., Wafula, E. K., Tanskanen, J., Kim, Y.-M., Honaas, L., et al. (2019) Genome sequence of *Striga asiatica* provides insight into the evolution of plant parasitism. *Curr. Biol.* 29, 3041-3052.
2. Goyet, V., Wada, S., Cui, S., Wakatake, T., Shirasu, K., Montiel, G., Simier, P. and Yoshida S. (2019). Haustorium Inducing Factors for Parasitic Orobanchaceae. *Front. Plant Sci.* 10, 1-8.
3. Wada, S., Cui, S. and Yoshida, S. (2019) Reactive Oxygen Species (ROS) Generation is indispensable for haustorium formation of the root parasitic plant *Striga hermonthica*. *Frontiers Plant Sci.* 10:328
4. Mutuku, J.M., Cui, S., C., Hori, Takeda, Y., Tobimatsu, Y., Nakabayashi, R., Mori, T., Saito, K., Demura, T., Umezawa, T., Yoshida, S., Shirasu, K. (2019) The Structural Integrity of Lignin Is Crucial for Resistance against *Striga hermonthica* Parasitism in Rice. *Plant Physiol.* 179, 1796-1809
5. Cui S, Wada S, Tobimatsu Y, Takeda Y, Saucedo SB, Takano T, Umezawa T, Shirasu K, Yoshida S. (2018) Host lignin composition affects haustorium induction in the parasitic plants *Phtheirospermum japonicum* and *Striga hermonthica*. *New Phytol.* 218(2):710-723
6. Wakatake, T., Yoshida, S., Shirasu, K. (2018) Induced cell fate transitions at multiple cell layers configure haustorium development in parasitic plants. *Development* 145,dev1614848.



図：EdU標識による吸器の細胞分裂活性の可視化  
野生型では2日目にはほとんど細胞分裂活性が観察できないのに対し、変異体では4日目まで活性が観察される。スケールバー 200 μm

# A02 公募研究班

## 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分化した細胞を生み出します。幹細胞が性質の異なる2つの細胞に分裂す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、この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しなくなり、等分裂によりどちらの娘細胞もストレス耐性細胞(Brood cell)になります。このようにヒメツリガネゴケの幹細胞は周囲の環境に応じて細胞の分裂様式を切り替え、細胞運命を巧みに変化させながら生存し続けています。

それではどのようなしくみで植物幹細胞が周囲の環境変化に応じその分裂様式や細胞運命を制御しているのでしょうか。私たちはこれまでの研究で植物に特有の細胞小器官や構造である液胞や細胞壁に注目し、これらの制御に関わる2種類のタンパク質に着目し研究を進めてきました。その結果、液胞の形態や大きさの変化などの制御に関わるGRAS族の転写因子と水チャンネルを構成するアクアポリンが植物幹細胞の不等分裂制御に重要であることがわかってきました(図)。また、細胞膜に存在する分子量の比較的小さな膜タンパク質が分裂様式の切り替えに重要であることもわかってきました。この膜タンパク質の下流では植物ホルモンであるオーキシン情報伝達系因子や細胞骨格の制御も関与していることがわかってきました。今後はこれらの研究を継続し、植物特有の構造である液胞や細胞壁がどのように植物幹細胞の分裂様式や細胞運命の制御に関わるのか、さらに理解を深めていきたいと考えています。

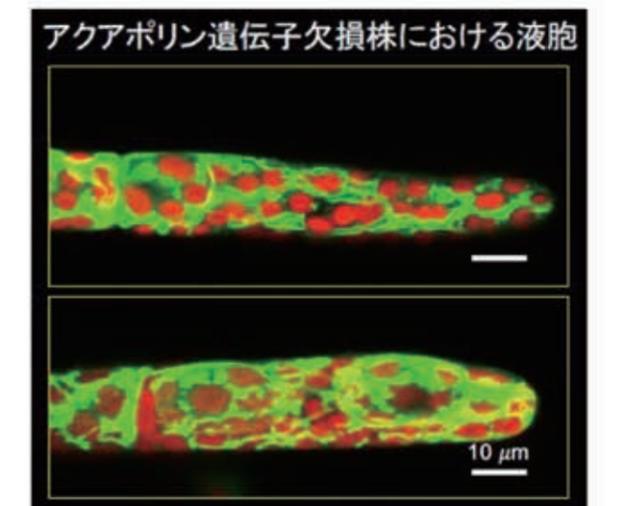
また幹細胞の運命制御には隣接する細胞間でのコミュニケーション制御も重要です。動物では細胞間コミュニケーションはギャップ結合などが担う一方、植物では構造の全く異なる原形質連絡(プラスモデスマータ)が重要な働きをしています。コケ植物の原糸体でも頂端幹細胞の破壊により細胞間コミュニケーションが遮断されると、隣の非幹細胞が幹細胞化することが知られています。しかし原形質

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はまだまだよくわかっていません。また細胞間コミュニケーションの制御と幹細胞の運命制御との関係もわかっていないことが多く存在します。

私たちはヒメツリガネゴケの原糸体が、細胞間コミュニケーションの研究にも優れていることに気づき、細胞間コミュニケーションの変化を生きたまま、定量的に捉える実験系をこれまでに確立してきました。そしてこの実験系を用いることで、頂端幹細胞がストレス耐性細胞に運命転換するときに重要な原形質連絡の制御因子を2種類明らかにすることができました(Tomoi et al. *in press*)。今後はこれらの因子を手掛かりに原形質連絡による細胞の位置情報の制御がどのようなしくみで行われており、それがどのように幹細胞の運命制御に関わるのかを明らかにしていきたいと考えています。

### 【関連する研究成果論文リスト】

- Tomoi, T., Kawade, K., Kitagawa, M., Sakata, Y., Tsukaya, H., and Fujita, T. Quantitative imaging reveals distinct contributions of SnRK2 and ABI3 in plasmodesmal permeability in *Physcomitrella patens*. *Plant and Cell Physiology*, *in press*.



図：アクアポリン遺伝子欠損株では野生型に比べ巨大液胞ができにくく液胞は異常形態を示します。植物幹細胞で液胞を利用し不等分裂を制御するしくみがわかってきました。

## 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

### 【研究の背景・目的】

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。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。本研究では、多数種の植物研究・文献をつなぎ合わせてきたこの現象について、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観察することを目的の一つとしました。また、最近、私たちは世界初の植物ミトコンドリアゲノムの編集技術（標的遺伝子破壊）の開発に成功しました。この技術を改良しつつ、分断保持されたDNAからゲノム全体をきちんと増殖・複製する仕組みを解明することを目的として研究を行いました。

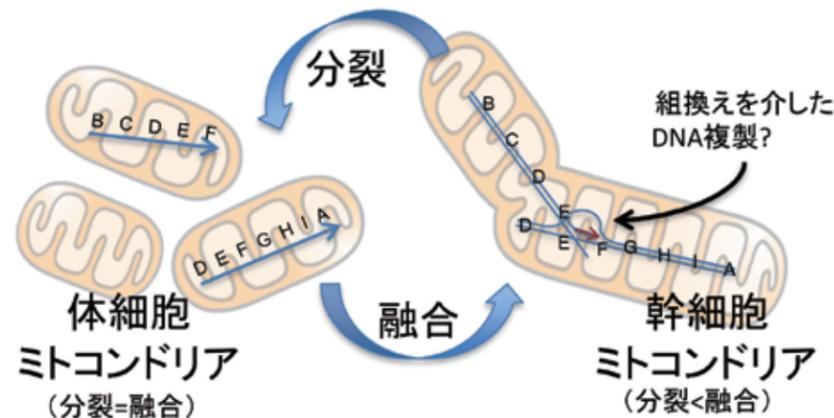
### 【研究成果と今後の展望】

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例がいくつか報告されています。本研究ではシロイヌナズナC24を用いて、脱分化カルス化の過程でのミトコンドリアゲノムと核ゲノムのコピー数変化をqPCR法と単離ミトコンドリアの蛍光イメージングによって解析検証を行いました。その結果、脱分化の過程で核ゲノムコピー数と比較したミトコンドリアDNAコピー数の顕著な増加が観察されました。つまり、これから分裂増殖を行う細胞となる過程で、核ゲノムの増幅以上にミトコンドリアゲノムが増幅す

ることがシロイヌナズナにおいても確認されました。また、分化した組織/細胞内のミトコンドリアは、内部にDNAを保持しないものが数多く存在することが知られていますが、この脱分化の過程で「DNA/核様体を保持するミトコンドリア」の割合が増加することが明らかとなりました。もともと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です）。この新学術領域内の共同研究として、北海道大学藤田知道先生とヒメツリガネゴケを材料として体細胞および脱分化再生過程でのミトコンドリアとDNA/核様体についても観察と解析を行いました。その結果、ヒメツリガネゴケでは、幹細胞に限らず、通常の分化した体細胞においてもミトコンドリアの多くが核様体を保持していることが明らかになりました。シロイヌナズナ等の種子植物では、前述した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が数多く存在しますが、それらは細胞内を盛んに動きまわって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していると考えられています。ヒメツリガネゴケのミトコンドリアを観察したところ、種子植物のものとは比べ非常に動きが遅いことが知られています。今後、分裂や融合の頻度を測定するべく準備を行っています。また現在、ヒメツリガネゴケの体細胞・脱分化再分化過程におけるミトコンドリア・核様体とその動態を引き続き観察解析を行っています。

### 【関連する研究成果論文リスト】

Tomohiko Kazama; Mirai Okuno; Yuta Watari; Shungo Yanase; Chie Koizuka; Yu Tsuruta; Hajime Sugaya; Atsushi Toyoda; Takehiko Itoh; Nobuhiro Tsutsumi; Kinya Toriyama; Nobuya Koizuka; Shin-ichi Arimura, (2019) Curing cytoplasmic male sterility via TALEN-mediated mitochondrial genome editing. *Nature Plants*, 5: 722 - 730.

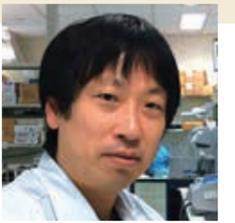


植物幹細胞では融合した巨大ミトコンドリアが複数観察されており、分断されたゲノム情報の複製と維持と不可分である可能性がある。

## 植物幹細胞研究を加速させる植物ホルモンの光分解能検出

～幅広い濃度域を検出できる遺伝子コード型

緑色蛍光グルコースセンサー：植物細胞への適用を目指して～



研究代表者

北口 哲也

東京工業大学 准教授

グルコースはエネルギー源として、生物個体の活動や恒常性の維持に重要な役割を果たしています。例えば植物では、茎頂分裂組織や根分裂組織の細胞分裂活性化の制御や、植物ホルモンとの協調による成長の制御が知られています。したがって、グルコース自身はもちろん、さまざまな分子との機能的相互作用や階層的相関が植物生理機能を発揮するために重要であり、他分子との細胞内動態の同時検出が望まれています。これまで、細胞内でのグルコース動態を検出するためにFRET型の蛍光センサーが開発され、時空間的な可視化解析が行われてきました。しかし、複数分子間の相互作用や階層的機能相関を解析するためには、マルチカラーイメージングに適した単色型センサーが必要となります。本研究では、新規の単色輝度変化型のグルコース可視化蛍光センサーの開発を目指しました。

緑色蛍光タンパク質の一種であるCitrineを基盤とし、大腸菌由来のグルコーストランスポーターであるMglBのグルコース結合ドメインを蛍光タンパク質の発色団の近傍に融合することでプロトタイプを構築しました。このプロトタイプはグルコース添加でほとんど輝度変化を起こさず、センサーとして使用することができませんでした。そこで、蛍光タンパク質と結合ドメイン間のアミノ酸リンカーの長さや部位特異的なアミノ酸ランダム変異導入による最適化を行ったところ、最終的には、グルコース添加で蛍光強度が7倍程度に上昇するセンサーを獲得することに成功しました。このセンサーは、励起スペクトルのピークは503 nm、蛍光スペクトルの

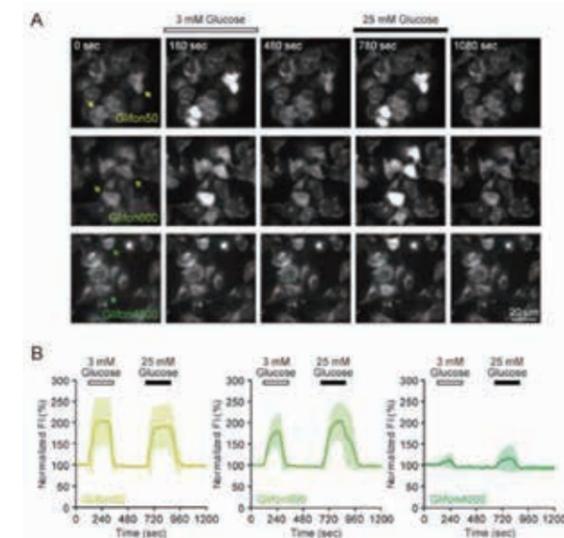
ピークは523 nmという緑色蛍光を持つセンサーで、“Green Glifon” (Green Glucose indicating fluorescent protein)と名付けました。

次に、幅広いグルコース濃度域を網羅できるようにセンサーのグルコースに対する親和性を調節することにしました。X線構造解析によりグルコース結合に関与することが示唆されているアミノ酸へ変異導入した複数のセンサーを作製し、濃度依存曲線によりEC50を算出したところ、50 μM、600 μM、4000 μMとなるセンサーの構築に成功し、それぞれGreen Glifon50、Green Glifon600、Green Glifon4000と名付けました。

この3つのセンサーをそれぞれHeLa細胞に導入し、外液にグルコースを添加すると、蛍光強度が上昇することが観察されました。また、それぞれのセンサーで輝度上昇の程度が異なっており、センサーの親和性の違いがこの違いを生み出していると考えられました。3つのセンサーは異なる濃度域のグルコースを検出することに適しており、使い分けることで幅広いグルコース濃度の検出に用いることができます。今後、同一細胞内でグルコースと他分子との同時イメージングを行い、植物幹細胞研究における複数分子間の相互作用の解析に貢献していく予定です。

### 【関連する研究成果論文リスト】

Mita M et al. Green fluorescent protein-based glucose indicators report glucose dynamics in living cells. *Anal Chem* 91, 4821-4830, 2019.



図：濃度域の異なる3つのグルコースセンサーによる生細胞イメージング (Mita et al. *Anal Chem* 2019より転載)  
A グルコース刺激時の細胞の蛍光顕微鏡像  
B グルコース刺激時の蛍光強度変化の経時変化グラフ

## 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

### 【研究の背景・目的】

有性生殖を行う生物は、受精により次世代に遺伝情報を繋いでいきます。被子植物の受精は、雌しべの中にある卵細胞が雄の花粉管によって運ばれる精細胞を受け取ることで行われます。受精により卵細胞は根源的な幹細胞ともいえる受精卵となり、動的に性質を変えつつ胚発生を進めます。私たちは、この受精・胚発生の過程に着目し、遺伝情報の伝達と発現を担うクロマチンの制御、特に染色体維持に必須なヒストンバリエントCENH3とそれを取り囲むヘテロクロマチン領域が再編成される仕組みについて研究しています。シロイヌナズナを用いて、クロマチンの動態観察や関連する因子の探索・解析を行い、受精・胚発生過程における植物幹細胞の新生と維持の仕組みの解明を目指します。

### 【研究成果】

セントロメア特異的なCENH3マークはほとんどの細胞で観察されます。また、セントロメア領域はヘテロクロマチン領域に囲まれており、その動態は相互に制御されることが考えられます。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を新規にマークすることが報告されていました。そこで私たちは、CENH3やヘテロクロマチン特異的なタンパク質を蛍光タンパク質で可視化する植物株を作り、ライブイメージングにより受精時の動態とそれらの関連を解析しました。その結果、受精後約12時間で拡散したCENH3のシグナルが検出され始め、その後約5時間で他の細胞でも観察されるようなドット状のマークが形成されることを明らかにしました。同様に、ヘテロクロマチン特異的なヒストンH2Aの観察を行ったところ、意外にもヘテロクロマチンマークの凝集はCENH3マークが形成された約6時間後に起こることを見出しました。また、近藤班と共同研究を行い、分化が進んだ葉肉細胞でもCENH3マークはほとんど検出されず、維管束分化誘導により脱分化・リプログラミングを進めている細胞でCENH3マークが再形成される可能性を見出しました。これらの結果は「受精時にプログラムされた幹細胞新生」と「分化誘導時における幹細胞新生」におけるクロマチンマークの再編成および発生制御の共通機構を探る手掛かりになると考えています。

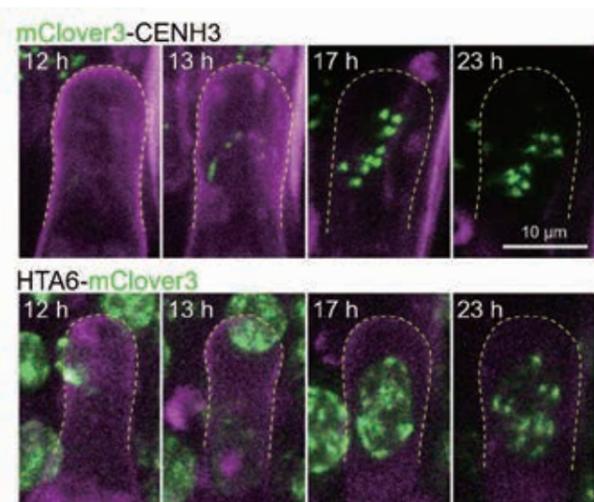
私たちはCENH3マークの形成に必要な分子機構を明らかにするために、植物では同定されていないCENH3の運搬タンパク質の探索・解析も行っています。これまでに、動物や酵母でCENH3

の運搬に関わることが知られていたNASPタンパク質のオーソログが、シロイヌナズナの胚発生に重要な役割を果たすことを明らかにしています。CENH3は種間でアミノ酸配列の変化が大きいタンパク質ですが、私たちが絞り込んだセントロメアに運ばれるために重要なアミノ酸領域の一つをNASPが認識することも示唆されました。

### 【今後の展望】

受精卵におけるCENH3やヘテロクロマチン、様々なクロマチンマークの動態を変異体と組み合わせて調べることで、クロマチン制御の仕組みに迫ろうと考えています。さらに、その後の胚発生や分化誘導時においても同様の解析を行うことで、植物幹細胞が新生される際のクロマチンの特徴と制御機構の解明を目指します。

染色体維持にも必須なCENH3の運搬に関しては、NASPだけではセントロメア特異的な運搬に十分でないと考えられるため、さらなる鍵タンパク質の探索を進めていきます。分子機構の詳細や受精時における動態の解析に加え、変化による種特異性の操作なども試みていくことで、植物幹細胞の理解・操作に向けた研究を展開していきます。



図：ライブイメージングによるCENH3およびHTA6（ヘテロクロマチン特異的ヒストンH2A）の動態の解析（黄色点線、受精卵の輪郭；h、受精後およびその時間）

## 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

### 【研究の背景・目的】

植物の根においては、根端メリステムの中の幹細胞で生み出された細胞は複数の種類の細胞列を作り出します。私たちは、この細胞列が適切なパターンをもって形成される制御系の解明に取り組んでいます。内鞘細胞においては自発的、自己組織的にオーキシニックピークが作られ、このオーキシニンに反応して不等分裂が起きて側根原基のパターン形成を開始します。オーキシニンに反応した分裂を行うことができるのは内鞘細胞だけです。つまり内鞘細胞は根端メリステムを形成するユニークな幹細胞であり、この幹細胞性を作り出すしくみに取り組んでいます。

### 【研究成果】

細胞列の数の制御はどのように行われているのか？葉の表皮にはメリステモイド母細胞(MMC)と呼ばれる幹細胞があります。

MMCが不等分裂をすることで気孔前駆細胞とペーブメント細胞になる細胞が作られます。この不等分裂の頻度を負に制御するペプチド性シグナル分子としてCLE9を見出しました。CLE9はMMCだけではなく道管前駆細胞でも発現していることがわかったので根での機能を調べたところ、道管の細胞列を増やす縦方向の分裂を抑制する因子であることもわかりました。興味深いことに、CLE9はMMCと道管前駆細胞では違った受容体で認識されることで違った発生過程を制御していることがわかりました（Nature Plants 2018）。2019年度は関連した研究をさらに拡張し、新た

な細胞間シグナル分子とその受容体を介した維管束系のパターンニング制御の仕組みに関する結果を得ています。

内鞘細胞が幹細胞性を持っている仕組みは全くわかっていません。私たちは、内鞘細胞にオーキシニン誘導性細胞分裂能や内鞘細胞特有の遺伝子発現パターンを与える内鞘細胞マスター転写因子複合体を見出しました。内鞘細胞はユニークな幹細胞性を持ち、細胞分裂能を維持し、オーキシニンに反応して速やかに細胞分裂を行います。本研究で、内鞘細胞はG2期に停止していて、オーキシニンがG2からM期に進めることがわかりました。

### 【今後の展望】

今後は、内鞘細胞のマスター転写因子複合体が制御する転写ネットワークを解明し、内鞘細胞が幹細胞性を維持する実態に迫りたいと考えています。さらに、内鞘細胞から側根原基形成に至る際の、細胞間コミュニケーションを介した極性化機構に迫りたいと考えています。根端では各種の細胞列が適切に形成されますが、そのパターンを自己組織化を担う細胞間シグナル分子の解明も行います。

### 【関連する研究成果論文リスト】

1. Pernisova M. et al. (2018) Cytokinin signalling regulates organ identity via the AHK4 receptor in Arabidopsis. *Development* 145(14) dev163907
2. Qian P, Song W, Yokoo T, Minobe A, Wang G, Ishida T, Sawa S, Chai J, Kakimoto T. (2018) The CLE9/10 secretory peptide regulates stomatal and vascular development through distinct receptors. *Nature Plants* 238. doi: 10.1038/s41477-018-0347-y.

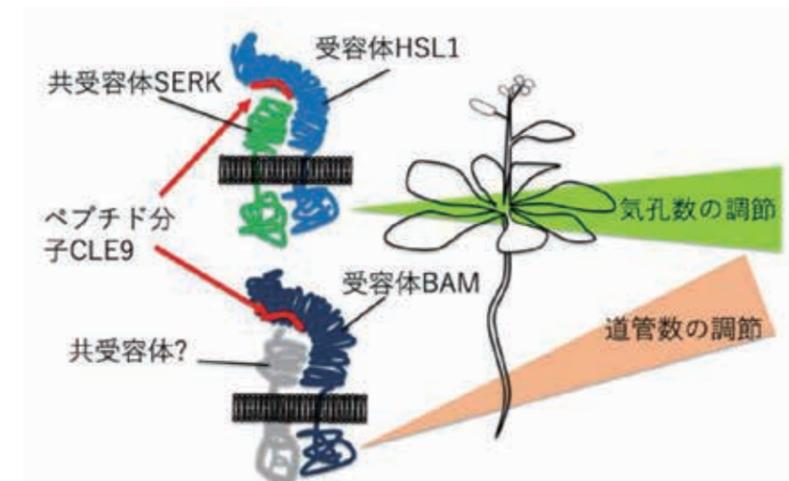


図. CLE9ペプチドは、別々の受容体システムに受容されて、気孔数の調節と道管数の調節を行う

## 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

### 【研究の背景・目的】

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。本新学術研究では、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。

### 【研究成果】

シロイヌナズナの花幹細胞の抑制には、AGAMOUS (AG)、SUPERMAN (SUP)の2つの転写因子が主に機能していることが知られています。私たちは、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。sup crc二重突然変異体を作出したところ、二重突然変異体においては花幹細胞の増殖はさらに増強されていました (Front. Ecol. Evol. doi: 10.3389/fevo.2019.00437 2019)。現在、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。

### 【関連する研究成果論文リスト】

- Lee, Z.H., Tatsumi, Y., Ichihashi, Y., Suzuki, T., Shibata, A., Shirasu, K., Yamaguchi, N., Ito, T. (2019) "CRABS CLAW and SUPERMAN coordinate hormone-, stress- and metabolic-related gene expression during Arabidopsis stamen development" *Front. Ecol. Evol.* doi: 10.3389/fevo.2019.00437.
- Lee, Z.H., Hirakawa, T., Yamaguchi, N. and Ito, T. (2019) "The Roles of Plant Hormones and Their Interactions with Regulatory Genes in Determining Meristem Activity" *International Journal of Molecular Sciences*. doi:10.3390/ijms20164065
- Sun, B., Zhou, Y., Caia, J., Shanga, E., Yamaguchi, N., Xiao, J., Looi, L-S., Wee, W-Y, Gao, X., Wagner D., and Ito, T. (2019) "Integration of transcriptional repression and Polycomb-mediated silencing of WUSCHEL in floral meristems" *Plant Cell* doi.org/10.1105/tpc.18.00450
- Xu, Y., Yamaguchi, N., Gan, E-S., and Ito, T. (2019) "When to stop: an update on molecular mechanisms of floral meristem termination." *Journal of Experimental Botany*. 70: 1711-1718.
- Yamaguchi, N., Huang, J., Tatsumi, Y., Abe, M., Sugano, S.S., Kojima, M., Takebayashi, Y., Kiba, T., Yokoyama, R., Nishitani, K., Sakakibara, H., and Ito, T. (2018) "Chromatin-mediated feed-forward auxin biosynthesis in floral meristem determinacy" *Nature Communications* 9, DOI 10.1038/s41467-018-07763-0.
- Xu, Y., and Ito, T. (2018) "Meristem Termination and Organ Number Control in Early Stage of Arabidopsis Flower Development" *Journal of Cell Signaling*. DOI: 10.4172/2576-1471.1000186
- Xu, Y., Prunet, N., Gan, E-S., Wang, Y., Stewart, D., Wellmer, F., Huang, J., Yamaguchi, N., Tatsumi, Y., Kojima, M., Kiba, T., Sakakibara, H., Jack, T.P., Meyerowitz, E.M., Ito, T. (2018) "SUPERMAN regulates floral whorl boundaries through control of auxin biosynthesis." *EMBO Journal* DOI: 10.15252/embj.201797499

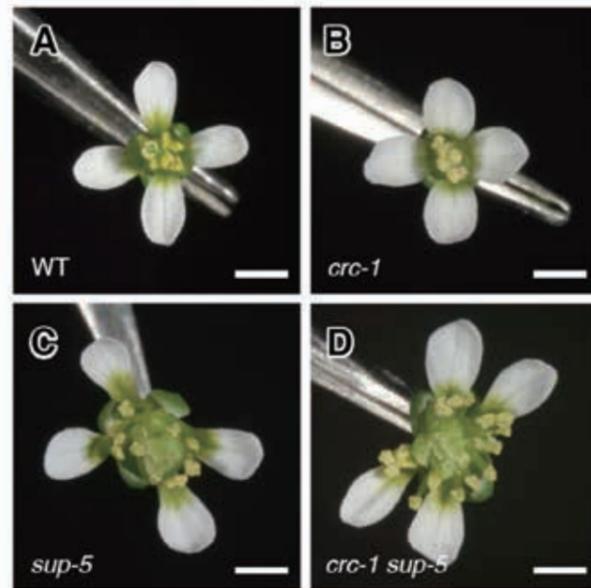


図: Flowers of wild type, *crc-1*, *sup-5*, and *crc-1 sup-5* double mutant at stage 13 of flower development.

## 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

シュート器官は全て、茎の先端部に存在する茎頂分裂組織からつづられます。この組織はドーム状の形をしており、その一番高いところに多能性幹細胞が存在します (図A)。茎頂分裂組織では細胞が横方向へ増殖・成長することで自身の領域を拡大しようとする一方で、周辺部からは一定の頻度で器官原基が分化するため、分裂組織のサイズが一定に維持されます。私たちは、この茎頂分裂組織に特有な成長方向の制御が幹細胞の維持に重要であると考え、この過程に関与すると思われるNAC型転写因子CUC1・CUC2・CUC3 (以下、CUCタンパク質) の機能解析を進めてきました。

CUCタンパク質はいずれも胚発生において子葉原基の境界部で発現し、茎頂分裂組織の形成を促進する機能を持ちます。これらの因子の下流で働く遺伝子の一つとして、KNOX型転写因子をコードするSTMがあります。STMの機能が欠損すると茎頂分裂組織の横方向の拡大が阻害され、組織の細胞が全て葉に分化してしまいます。私たちは、この遺伝子がCUC1による直接的転写制御を受けていることを明らかにしました。したがってCUCタンパク質は、STM遺伝子の発現制御を介して、形成期における茎頂分裂組織の横方向への拡大を制御すると考えられます。

私たちはまた、STMとは別にCUCタンパク質の制御下で働く因子としてオーキシンにも着目しました。オーキシンは植物体の様々な部位で局所的に生合成された後、極性輸送によって組織内を移動し、器官原基の予定領域で蓄積して作用するホルモンです。私達はCUC遺伝子の機能欠損変異体において、オーキシンの応答性レポーターであるDR5の発現開始の遅延や発現部位の乱れが起こることを見つけました。このことは一連のオーキシン経路のどこかにCUCが影響することを意味します。そこでオーキシンとCUCおよびSTM遺伝子との関係を解析したところ、オーキシンの生合成遺伝子であるYUC1とYUC4の発現にCUCが必要であるが、STMは必要でないことがわかりました。このことは、CUCの下流においてSTMとオーキシンの生合成遺伝子が独立に働くことを示唆しています。また、胚に対してオーキシンを投与する実験を行ったところ、CUCの機能欠損変異体では、野生型に比べて子葉境界部でのオーキシン応答性が高まっていることもわかりました (図B)。この部位は通常はオーキシン応答が抑えられていることから、CUCがオーキシンの生合成遺伝子だけでなく、応答に関わる遺伝子の発現も制御していることが示唆されます。現在、どのような遺伝子の発現制御を介してCUCがオーキシン応答に影響を及ぼすのか、いくつかの候補遺伝子に絞って解析を進めているところです。

今後はオーキシンとSTMがどのように協調して、茎頂分裂組織の成

長方向を制御しているのかを明らかにすることが重要と考えています。そのため、YUC遺伝子やオーキシン応答性に関わる遺伝子とSTMとの遺伝的な相互作用を明らかにすること、これらの遺伝子がWUSやCLV3といった幹細胞の制御系にどのような影響を与えるかを明らかにすること、そして各遺伝子が茎頂分裂組織の成長方向に与える影響を定量的に明らかにすることを目標に、さらに研究を進めています。

### 【関連する研究成果論文リスト】

- Ishihara H, Sugimoto K, Tarr PT, Temman H, Kadokura S, Inui Y, Sakamoto T, Sasaki T, Aida M, Suzuki T, Inagaki S, Morohashi K, Seki M, Kakutani T, Meyerowitz E, Matsunaga S (2019). Primed histone demethylation regulates shoot regenerative competency. *Nat Commun* 10, 1786. doi: 10.1038/s41467-019-09386-5.
- Scofield S, Murison A, Jones A, Fozard J, Aida M, Band LR, Bennett M, Murray JAH (2018). Coordination of meristem and boundary functions by transcription factors in the SHOOT MERISTEMLESS regulatory network. *Development* 145, doi: 10.1242/dev.157081.

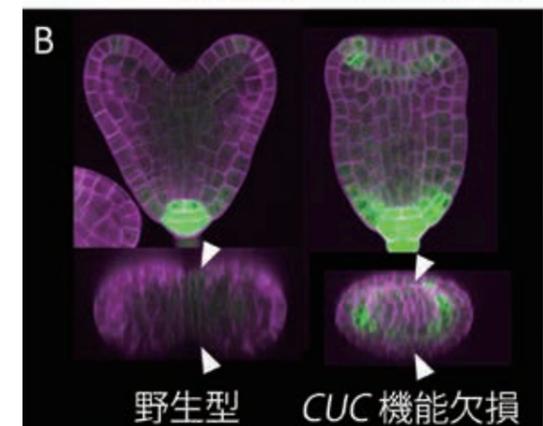
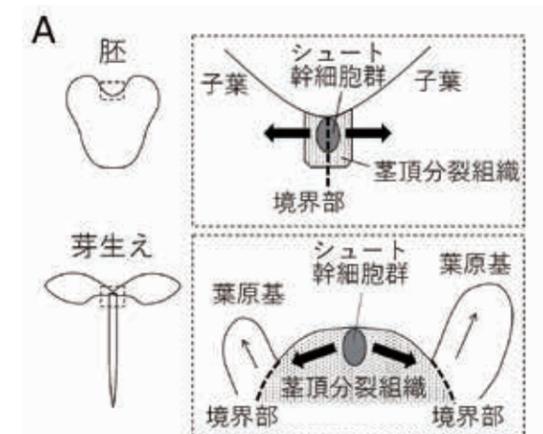


図: A) 胚および芽生えにおける茎頂分裂組織の成長方向。  
B) オーキシン投与時のDR5の発現。上段は縦断面、下段は横断面の光学切片像。矢じりは子葉境界部を示す。

## 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



研究代表者

木村 成介

京都産業大学総合生命科学部 教授

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.1)。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、葉の切断に反応して再生します。*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反応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。そこで私たちは、*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。

本研究では、まず、*R. aquatica*のゲノム解読に取り組みました。次世代シーケンサー(イルミナおよびPacBioプラットフォーム)で*R. aquatica*のゲノムをシーケンスした後、Hi-C法を行うことで染色体スケールのスキュアフォールドの作成に成功しました。*R. aquatica*の染色体は30本ありますが、染色体間の配列比較により、*R. aquatica*は異質4倍体で、染色体の一部が融合していることが示されました。イヌガラシ属植物の2種の雑種から*R. aquatica*が成立したと考えられ、水環境への適応進化を考える上で興味深い知見です。

これまでの研究で、*R. aquatica*の再生過程の経時的なトランスクリプトーム解析などを行い、葉の切断により維管束周辺の細胞が活性化することで、再生が開始することを明らかにしていました。また、オーキシンとサイトカイニンが自律的に制御され、根と茎葉が形成されることも明らかにしていました。今回、ジベレリンに注目して解析を進め、ジベレリンが根の成長に必要であることを明らかにしました。

*R. aquatica*がなぜ葉の断面から再生できるのかを明らかにするため、シロイヌナズナの葉を用いた比較トランスクリプトーム解析を行いました。*R. aquatica*では、葉の切断直後にオーキシン応答性の遺伝子の発現が変動していましたが、シロイヌナズナでは同様の遺伝子発現変動は観察されませんでした。*R. aquatica*とシロイヌナズナの葉の内部構造の形態を観察してみたところ、*R. aquatica*はシロイヌナズナと比較して細胞が密に存在していることがわかりました。また、*R. aquatica*は、シロイヌナズナよりも、切断後の葉の光合成活性が低下しにくいこともわかりました。葉の組織構造など違いにより、*R.*

*aquatica*の葉ではオーキシンが蓄積しやすいことが再生のしやすさにつながっていることを示唆する結果です。

今後は、引き続き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、再生をしない近縁植物との比較解析などにより、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。

### 【関連する研究成果論文リスト】

1. Amano R., Nakayama H., Momoi R., Omata E., Gunji S., Takebayashi Y., Kojima M., Ikematsu S., Ikeuchi M., Iwase A., Sakamoto T., Kasahara H., Sakakibara H., Ferjani A., \*Kimura S. (2020) Molecular Basis for Natural Vegetative Propagation via Regeneration in North American Lake Cress, *Rorippa aquatica* (Brassicaceae). *Plant and Cell Physiology*, published on line
2. Yamamoto M., Uji S., Sugiyama T., Sakamoto T., Kimura S., Endo T., \*Nishikawa S. (2020) ERdj3B-mediated quality control maintains anther development at high temperatures. *Plant Physiology*, published on line
3. \*Takeda S., Yoza M., Amano T., Ohshima I., Hirano T., Sato M.H., Sakamoto T., \*Kimura S. Comparative transcriptome analysis of galls from four different host plants suggests the molecular mechanism of gall development. (2019) *PLOS ONE*, 14, e0223686
4. 郡司 玄, 天野 瑞美, 金子 真也, Ferjani Ali, \*木村 成介 (2019) アブラナ科植物*Rorippa aquatica*の再生能力に注目した栄養繁殖の教材化と授業実践. *生物教育* 60, 137-147



図：葉の断面から再生する*Rorippa aquatica*

## 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



研究代表者

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(Intercalary Meristem: IM)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) イネ介在分裂組織の分子レベルでの特徴づけと幹細胞マーカーの探索

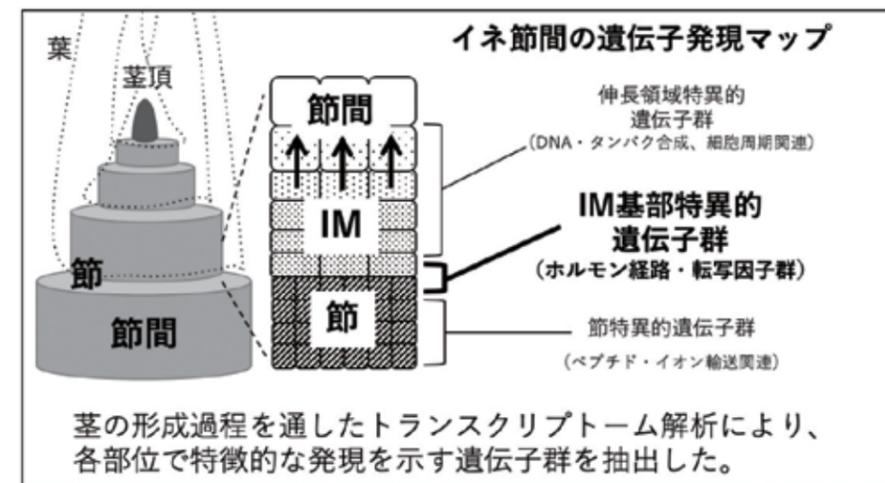
介在分裂組織はイネ科植物の節間基部に存在する細胞分裂帯で、タケに代表される劇的な節間伸長能力の基盤となる組織です。節間の伸長制御は穀物の倒伏耐性にも直結するため、育種学的にも重要です。このような重要性にも関わらず、イネやトウモロコシを材料に1960年代以前に組織学的観察が行われたのを最後に、発生学的な研究はほとんどなされておらず、植物の他の器官とくらべても形成メカニズムの理解が遅れています。

KNOX・BLH変異体では介在分裂組織が早期に消失することから、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、発生中の節間

部位別トランスクリプトームを取得し遺伝子発現マップを作成することで、介在分裂組織を含めた節間の各部位の特徴づけをおこないました。ここでは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マーカー候補の絞り込みも行いました。その結果、介在分裂組織の中でも特に基部領域で複数の植物ホルモン経路や幹細胞制御に関わることで知られる転写因子などの遺伝子群が高発現することがわかりました。さらにこれらはKNOXの制御下にあるものが多く、細胞未分化性の制御と節間形成の密接な繋がりが明らかになりつつあります。今後これらの因子群の変異体・レポーターを用いた機能解析やKNOX抗体を用いたChIPseqをすすめ、介在分裂組織の初期形成メカニズムの解明・幹細胞マーカーの同定を目指します。また、幹細胞の存在を明確に検証するためには、節間組織の細胞系譜を明らかにする必要がありますと考え、現在クローナル解析の準備も進めています。

(2) 節間分化にともなう細胞未分化性消失機構

KNOX転写因子は茎頂や茎などの分裂組織内で細胞間移行を行うことが知られており、タンパク質レベルでの機能制御機構が存在することが考えられました。私たちは、イネのKNOX転写因子OSH1が発現させる細胞タイプによっては明確な核外局在を示すことに着目し解析を進めました。その結果、KNOXは進化的に保存された核外移行シグナル様モチーフをもち、積極的に核外輸送をおこなうメカニズムが存在することがわかりました。本研究では、様々なタイプのDeletion型KNOXを作成し、その挙動・メリステム維持機能を明らかにすることで、核外輸送の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

### 【研究の背景・目的】

遺伝情報を正確に後代に伝えることは種の保存にとって重要である一方、環境変動等のリスクを考えた場合、ある程度の変異を許容し、遺伝的多様性を確保することも生存戦略の一つといえます。自殖性植物の場合、他の個体との交雑によって遺伝子が混ざることはいないため、遺伝的多様性を生み出すには、生殖細胞系列に変異が生じる必要がありますが、変異の量および質を制御するメカニズムの詳細は明らかにされていません。そこで本研究では、自殖性植物であるシロイヌナズナを材料に、生殖細胞系列の元となる茎頂分裂組織に任意のタイミングでDNA切断を導入できる系を構築し、茎頂分裂組織にDNA切断が生じた際のDNA修復の特徴や、後代に伝わる変異の数および質について解析を行うことにしました。

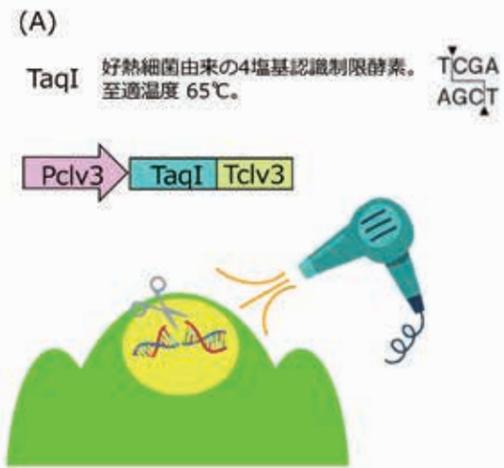
### 【研究成果】

茎頂分裂組織特異的発現を示すCLAVATA3 (CLV3) 遺伝子のpromoterと4塩基認識の制限酵素であるTaqIを連結したコンストラクトを形質転換したシロイヌナズナを作成しました。この

形質転換シロイヌナズナでは、茎頂分裂組織においてTaqIが発現していますが、TaqIの至適温度は65°Cであるため、22°C前後の通常のシロイヌナズナの生育環境では酵素活性は低く、DNA切断は誘導されません。一方、先行研究において、TaqIを発現しているシロイヌナズナを37°Cに移すことでTaqIが活性化され、DNA切断が誘導されることが報告されています。そこで、上記の形質転換体を24時間37°Cの環境下に置いたところ、茎頂分裂組織においては、DNA修復関連因子の発現が変化し、特に相組み換え修復関連因子の発現が顕著に上昇していることが明らかになりました。

### 【今後の展望】

茎頂分裂組織で生じたDNA切断の多くは正確に修復されると予想されますが、DNA修復のエラーによって生じた変異が後代に受け継がれる場合もあると考えられます。今後は親世代におけるDNA損傷の程度と、後代への変異伝播の相関や、茎頂分裂組織とそれ以外の組織でのDNA修復様式の違いについて詳細な解析を進める予定です。



(A) CLAVATA3 promoter, TaqIを利用した茎頂特異的、誘導的DNA損傷誘導システム。  
(B) 熱処理を行なった野生型シロイヌナズナ、形質転換シロイヌナズナの茎頂における遺伝子発現。



## GEMMA CUP-ASSOCIATED MYB1, an Ortholog of Axillary Meristem Regulators, Is Essential in Vegetative Reproduction in *Marchantia polymorpha*

Yukiko Yasui, Shigeyuki Tsukamoto, Tomomi Sugaya, Ryuichi Nishihama, Quan Wang, Hiroataka Kato, Katsuyuki T. Yamato, Hidehiro Fukaki, Tetsuro Mimura, Hiroyoshi Kubo, Klaus Theres, Takayuki Kohchi, Kimitsune Ishizaki, (2019) *Current Biology*, 29, 23, 3987 - 3995.

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、無性芽を次々と生み出す幹細胞群として振る舞います。無性芽が作られる杯状体の幹細胞がどのように作られるのか？その分子メカニズムの詳細は解明されていませんでした。

我々は、網羅的比較トランスクリプトーム解析から、杯状体で特異的に発現するR2R3-MYB型転写因子をコードする遺伝子を見出し、GEMMA CUP-ASSOCIATED MYB1 (GCAM1)と名付けました。GCAM1の発現組織を蛍光タンパク質レポーターを用いて詳細に観察したところ、GCAM1タンパク質が無性芽が発生する杯状体の底部と発生初期の無性芽で特異的に蓄積していることが分かりました。

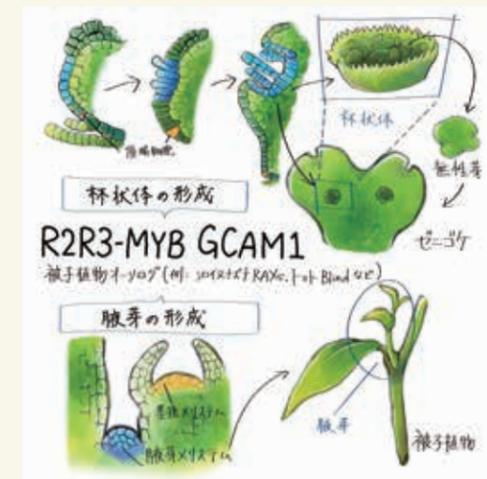
GCAM1遺伝子を欠損させた変異体を作成したところ、この変異体では杯状体が全くできないことが分かり、GCAM1遺伝子がコードするGCAM1タンパク質は杯状体形成のマスター制御因

子であることが明らかになりました。

さらにGCAM1機能を過剰に誘導すると、正常な植物の成長が起こらず、幹細胞としての性質を持つ未分化状態の細胞が増殖しました(図)。このことから、野生型におけるGCAM1は、杯状体で幹細胞を維持・増殖させ、杯状体と無性芽形成を制御していると考えられました。

興味深いことに被子植物におけるGCAM1相同遺伝子(シロイヌナズナのRAXやトマトのBlind)は腋芽形成に機能することが知られています。シロイヌナズナのRAX遺伝子欠損変異体は野生型に比べ腋芽の数が減少しますが、この変異体にゼニゴケのGCAM1遺伝子を導入したところ、腋芽の数が回復しました。このことは、ゼニゴケのGCAM1遺伝子が、被子植物において腋芽形成に機能し得ることを示しており、ゼニゴケの杯状体と被子植物の腋芽には共通の仕組みがある可能性が考えられます。

今後、GCAM1に関わる遺伝子制御のネットワークを調べ、被子植物との共通性を明らかにする事で、植物幹細胞の増殖を制御する基本メカニズムが解明されることが期待されます。



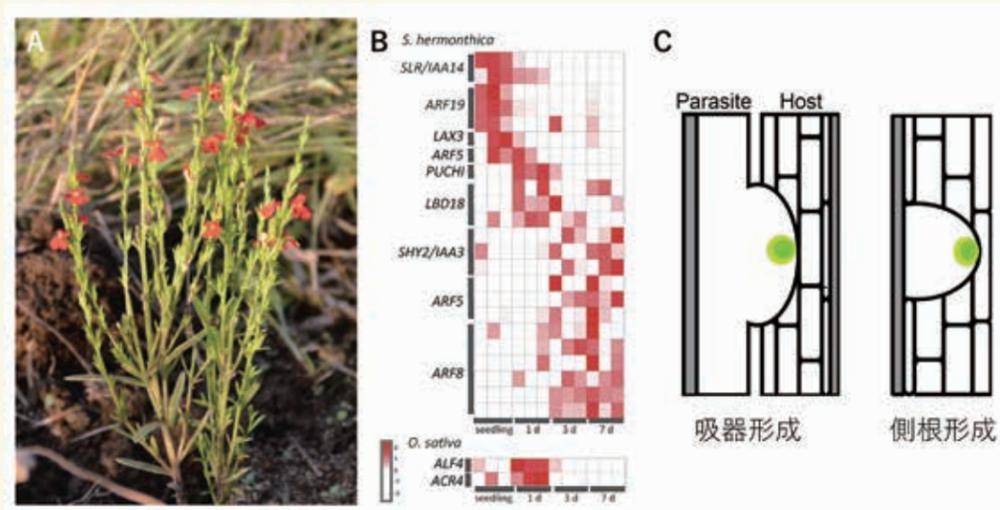
図：陸上植物に保存された幹細胞増殖の鍵因子  
GCAM1はゼニゴケの杯状体形成に、被子植物のオーソログ因子は、腋芽メリステム形成に機能する。杯状体と腋芽はどちらも増殖した幹細胞からつくられる点で共通している。

# Genome Sequence of *Striga asiatica* Provides Insight into the Evolution of Plant Parasitism

Satoko Yoshida, Seungil Kim, Eric K. Wafula, Jaako Tanskanen, Yong-Min Kim, Loren Honaas, Zhenzhen Yang, Thomas Spallek, Caitlin E. Conn, Yasunori Ichihashi, Kyeongchae Cheong, Songkui Cui, Joshua P. Der, Heidrun Gundlach, Yuannian Jiao, Chiaki Hori, Juliane K. Ishida, 26 more authors (2019) *Current Biology*, 29, 18, 3041 - 3052

寄生雑草ストライガは、トウモロコシやイネに寄生し収穫量を大幅に減らすため、アフリカ地域を中心に甚大な農業被害をもたらしています。この問題の根本的な解決のためには、ストライガの寄生のメカニズムを知る必要がありますが、これまでストライガの遺伝子解析はあまり進んでいませんでした。今回、私たちは1950年代にアメリカに侵入したストライガの系統を使って全ゲノム解析を行いました。近縁の独立栄養植物と比較すると、ストライガは、進化の過程で2度の全ゲノム重複を経験していることが分かりました。また、ストライガのゲノム中には宿主植物から水平伝播によって得た遺伝子やレトロトランスポゾンが見つかりました。これらの結果は、寄生に必要な遺伝子がゲノム重複や水平伝播によって得られた可能性を示唆しています。さらに、山口班や榊原班との共同研究により、ストライガゲノム中の植物ホルモン関連遺伝子の同定をおこないました。その結果、ストリゴラクトンの受容体をコードする遺伝子が20個以上見つかりました。ストライガは種々のストリゴラクトンに反応して発芽する性質を

備えています。ゲノム中の受容体遺伝子を重複させることによって様々な宿主に反応して発芽できるようになったと考えられます。またこの論文では、ストライガの大規模トランスクリプトーム解析も行いました。ストライガは宿主に寄生する際に、根の細胞をリプログラミングすることにより吸器と呼ばれる寄生器官を新生します。ストライガがイネに寄生する過程を追って発現遺伝子を同定したところ、吸器形成の過程における遺伝子発現パターンは側根形成によく似ていることが明らかになりました。これらの結果は、植物の根が新たに幹細胞を新生し側根を形成する仕組みを流用することにより、寄生植物の吸器が形成されることを示唆しています。本研究結果によって、寄生植物が進化の過程でどのように寄生形質を獲得し、根に吸器を形成できるようになったのかについて理解を深めることができました。また今後遺伝子の機能解析を進めることにより、寄生雑草防除法の開発につなげたいと考えています。



図：寄生植物ストライガと吸器形成  
A. *Striga asiatica* 植物。B. ストライガが宿主に侵入する際の側根形成に関わる遺伝子の発現パターン。C. 吸器形成と側根形成の比較。側根形成では内鞘細胞から分裂が開始し、側根の幹細胞が生じるが、寄生植物では、表皮、皮層、内鞘細胞が分裂し、吸器を形成する。緑の領域が幹細胞を含むメリステム組織を示す。

# BLADE-ON-PETIOLE Genes Temporally and Developmentally Regulate the Sheath to Blade Ratio of Rice Leaves

Taiyo Toriba, Hiroki Tokunaga, Hidetoshi Shiga, Fanyu Nie, Satoshi Naramoto, Eriko Honda, Keisuke Tanaka, Teruaki Taji, Jun-Ichi Itoh, Junko Kyojuka (2019) *Nature Communications*, 10, 1, 619

植物の幹細胞が葉を規則正しく分化させることにより、植物は成長を続けることができます。葉の形状は光合成を効率よく行うために重要であり、したがって、葉が幹細胞からどのように分化し、伸長、展開するかは、植物の成長と繁殖の成否を決める問題です。

イネ科植物の葉は、基部側の葉鞘（ようしょう）と先端側の葉身（ようしん）と呼ばれる二つの部分から構成されています。

BLADE ONPETIOLE (BOP) 遺伝子が葉の形態形成に関与することは知られていましたが、その詳細な機能は不明でした。

本研究では、イネBOP遺伝子のはたらきを破壊すると葉身だけの葉がつけられ、BOP遺伝子を人工的に強くはたらかせると葉鞘だけの葉がつけられることを見出しました（図）。この発見により、BOP遺伝子が葉鞘の形成を決定するマスター遺伝子であることが明らかになりました。

葉鞘と葉身は、葉鞘が葉を支え、葉身が光合成を行うという別々の役割を担っています。このため、一枚の葉の葉鞘と葉身の比率は、その葉がつけられる時点の植物体の成長段階に合わせて変化する必要があります。イネの生涯を通して、それぞれの葉の葉鞘と葉身の比率を決めるのはBOP遺伝子で、BOPが強いはたらくと葉鞘の比率が高く、はたらきが弱まると葉身の割合が高い葉、すなわち細長い葉がつけられることがわかりました。

植物は成長につれて、葉だけではなくさまざまな形質が変わります。植物の幼若期の特徴がmiR156という短いRNAによって決定されていることは知られていましたが、miR156がどのように植物に「幼さ」をもたらしているのかわかっていませんでした。miR156がBOPのはたらきを調節することにより、葉の形を幼若期の状態にしていることも、本研究によって初めて明らかになりました。



図：イネの第1葉はすべて葉鞘（白矢印）で構成される。イネの3つのBOP遺伝子の作用力が低下すると葉身（緑矢印）の割合が高くなる。BOPの機能をすべて失うと、第1葉がすべて葉身になる。黄矢頭は葉鞘と葉身の境界を表す。

# A Shared Gene Drives Lateral Root Development and Root Nodule Symbiosis Pathways in Lotus

Takashi Soyano, Yoshikazu Shimoda, Masayoshi Kawaguchi, **Makoto Hayashi** (2019) *Science*, 366 (6468), 1021-1023

マメ科植物の多くは、土壤中に存在する窒素固定細菌である根粒菌と細胞内共生することにより、大気中の窒素を固定して栄養として利用することができます。この過程では根に形成された「根粒」という構造が重要になります。マメ科植物の根粒形成は根の皮層細胞が分裂することにより開始されます。分化した皮層細胞が再び分裂することで根粒原基を誘導する現象を私たちは「リプログラミングによる幹細胞の新生」と捉え、マメ科モデル植物であるミヤコグサを用いて研究を進めてきました。特に、根粒形成に必要な転写因子NINは皮層細胞分裂の開始に重要な役割を果たしていることから、NINの下流で機能する遺伝子の中に根粒幹細胞の新生に関わる因子が存在すると考えました。

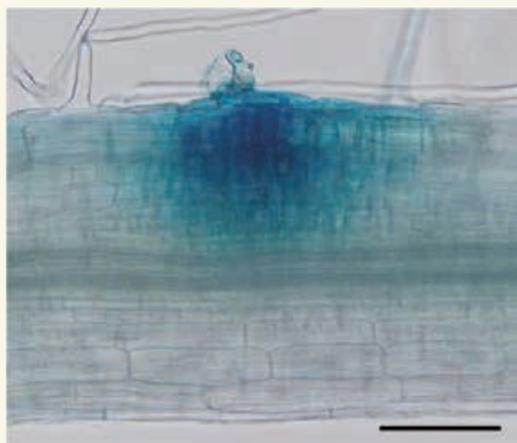
これまで、CAATボックスに結合することが知られているNF-Y複合体のサブユニットをコードする遺伝子である、ミヤコグサのNF-YA1とNF-YB1のプロモータ領域にNINが結合し、それらの転写を正に制御することを明らかにしてきました。さらにRNA-seqとChIP-seqを組み合わせることによって、NINの下流で発現が制御される遺伝子を網羅的に同定しました。

今回、それらの中でも転写因子をコードする遺伝子に絞

り、根粒形成に与える影響を検証しました。その結果、側根形成の初期において重要な役割を担うLBD16のパラログであるミヤコグサASL18aが、根粒形成においてNINの下流で機能することを明らかにしました。

まず始めに、NINがASL18a遺伝子のイントロンに結合することで、根粒原基での発現を調節していることを見出しました。この結合配列の有無を陸上植物のホモログで確認したところ、マメ科植物に特異的であることが分かりました。またASL18a変異体の解析から、ASL18a遺伝子は側根形成と根粒形成の両方に関与していることが明らかとなりました。さらに、ASL18aはNF-Yと複合体を形成することで皮層の細胞分裂を促進し、また皮層でのNINの機能を代替したことから、NINの下流ではこれらの因子が主要な働きを担うと考えられました。

以上の結果は、マメ科植物が側根形成プログラムを流用することで根粒形成を進化させたことを示唆する重要な知見となります。今後、領域内共同研究で確立した1細胞トランスクリプトーム解析技術などを活用しながら、特定の皮層細胞が分裂を開始するメカニズムを深く理解する予定です。



図：根粒原基におけるNIN遺伝子の発現。NINプロモータでGUSを発現させることにより可視化した。分裂した皮層細胞を中心にNIN遺伝子が発現している。スケールバー：100μm。

## 2019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
4月8日	遺伝研一般公開 2019	一般	研究所一般公開での野生イネ・栽培イネの展示と、最新の研究成果の紹介。	国立遺伝学研究所	津田 勝利 野々村 賢一
5月11日 12日	すずかけサイエンスデイ 2019	一般	植物や動物の細胞内を可視化するセンサーの説明。研究室の見学と最新研究機器の紹介。	東京工業大学 すずかけ台キャンパス	北口 哲也
5月13日 ～20日	JST さくらサイエンスプログラム	アジアからの 高校生、教員	アジア各国からの高校生と引率の教員に対する研究紹介。	立教大学理学部	榎原 恵子
5月18日	奈良先端科学技術大学院 大学オープンキャンパス	大学学部生	研究内容の紹介と研究室見学。共焦点レーザー顕微鏡、フローサイトメーターなどの研究機器の紹介と体験実習。	奈良先端科学技術大学院大学	梅田 正明
6月18日	いきものの共生（きょうせい）	幼稚園児（年長）、保育士	地衣類を題材に、生物の共生関係を紹介。細胞と共生体について説明。	認定こども園 白山幼稚園	岩瀬 哲
6月26日	高校生への研究内容と研究者キャリアの紹介	高校生	愛知県立旭丘高等学校数理科学部の学生への研究内容と研究者キャリアの紹介と、研究所の見学。	名古屋大学 トランスフォーマティブ生命分子研究所	武内 秀憲
7月13日	生物学の地平を開く -New Horizon in Biology-	一般	数理モデルを用いた研究と、分子生物学の手法で生物進化の過程を再現する研究を紹介。	東北大学 片平キャンパス 知の館	経塚 淳子 佐竹 暁子
7月22日 ～8月8日	名大 MIRAI グローバルサイエンスキャンパス	高校生	GSC 参加の高校生を受け入れ、植物栄養に関する講義・実験・プレゼンテーションを指導。	名古屋大学大学院 生命農学研究所	木羽 隆敏 榎原 均 田畑 亮
7月25日	高校生インターン	高校生	維管束細胞の分化誘導の1日体験実習。	東京大学理学部 2号館	近藤 侑貴
7月30日 31日	東北大学 オープンキャンパス	一般	研究室で扱う植物の展示と顕微鏡などでの観察。パネルや動画による研究概要の説明。	東北大学青葉山 キャンパス	経塚 淳子
8月1日 ～3日	立教大学 オープンキャンパス	高校生	ヒメツリガネゴケ、コマチゴケ、フタバネゼニゴケ、シャジクモなどの展示と研究室・研究紹介。	立教大学理学部	榎原 恵子
8月4日 5日	東三河海洋環境探求講座 臨海実習	高校生	SSH 愛知県立時習館高校生の受け入れ。海の動植物の細胞分裂の様子の観察とそのしくみの解説。	名古屋大学大学院 理学研究科附属臨海実験所	五島 剛太
8月5日	北海道大学 オープンキャンパス	高校生	「植物の発生・進化、細胞操作を体験しよう」と題したコケ植物を用いた実験体験。	北海道大学札幌 キャンパス	藤田 知道
8月6日 ～8日	SSH 生の受入	高校生	SSH 西大和学園高校生の受け入れ。顕微鏡を用いた、花弁サイズの制御遺伝子レポーターの発現観察。	奈良先端科学技術大学院大学 バイオサイエンス棟	伊藤 寿朗
8月6日 ～9日	SSH 高校生実習「寄生植物の吸器ができない変異体の遺伝子を調べる」	高校生	SSH 西大和学園高校生の受け入れ。変異体の表現型の分離比と遺伝子型を調べる実験指導。	奈良先端科学技術大学院大学 バイオサイエンス棟	吉田 聡子
8月7日	SSH 生徒研究発表会での生物学基礎解説	高校生、 教員	研究発表会場で高校生および教員に対する現代生物学の基礎解説。	神戸国際展示場	五島 剛太
8月8日	名古屋大学農学部 オープラボ	高校生、 一般	植物ホルモンの生理作用や研究方法などのポスターを用いた解説。	名古屋大学農学部	榎原 均 木羽 隆敏
8月9日	京都大学 オープンキャンパス	高校生	植物の発生と環境応答に関する説明。その後、研究室の見学と最新研究機器の紹介。	京都大学理学部2号館	嶋田 知生
8月10日	TOKYO TECH OPEN CAMPUS	高校生、 一般	植物や動物の細胞内を可視化するセンサーの説明。蛍光・発光タンパク質の観察体験。	東京工業大学 大岡山キャンパス	北口 哲也
8月13日 ～30日	インターンシップ	外国人、 学部生	研究室の研究活動に興味を持つ外国人学生を受け入れ研究生活を体験。	基礎生物学研究所	坪内 知美
8月21日 ～30日	体験実習	大学学部生	幹細胞研究に強い興味を持つ学生を長期で受け入れ、研究生活を体験。 (2回目：2020年3月17-23日)	基礎生物学研究所	坪内 知美
8月26日 27日	JST 次世代育成事業「科学の未来を創る女子中高生チャレンジ・ラボ ～家族・先生と一緒に知ろう!! 多彩な理系の未来～」チャレンジラボ	高校生	「生き物はみんな親戚？ DNAをつかって近縁関係しらべよう」と題した講義と分子系統解析の体験講座の実施。	立教大学理学部	榎原 恵子
8月28日 ～30日	大学生のための夏の実習	大学学部生	マウス ES 細胞の培養、フローサイトメーター、顕微鏡を使った解析と、結果のプレゼンテーション。	基礎生物学研究所	坪内 知美
9月14日	NAIST サイエンス塾	小学生と その保護者	花のかたち作りについての解説と、花を分解しての観察体験。	高山サイエンスプラザ	伊藤 寿朗
9月21日	理化学研究所 横浜キャンパス 一般公開	一般	生物のミクロの世界の様々な顕微鏡を使った観察体験。電子顕微鏡によるミクロの世界の観察体験。	理化学研究所 横浜キャンパス	豊岡 公德 林 誠

# 2019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
10月5日	基礎生物学研究所 一般公開	一般	哺乳類培養細胞の観察体験やクイズによる研究活動の紹介。	基礎生物学研究所	坪内 知美
10月5日	基礎生物学研究所 一般公開	一般	研究室の研究紹介と最新の研究機器の展示。	基礎生物学研究所	石川 雅樹
10月10日	名古屋大学公開講座	高校生、一般	「均質性と多様性：細胞研究者の視点」と題した講演。	名古屋大学 ES総合館 ESホール	五島 剛太
10月16日	宇治中学校 理科教育研修会	中学校 理科教員	研究室見学、研究機器の紹介。植物ホルモン関連の突然変異体の解説。	京都大学 宇治キャンパス化学研究所	山口 信次郎
10月16日	第74回理研 イブニングセミナー	一般、企業	「植物組織培養の壁を乗り越える～分子アプローチによる品種改良、量産、有用物質生産～」と題した講演	理化学研究所 横浜キャンパス	岩瀬 哲
10月19日	京都大学宇治キャンパス 公開特別講演会	一般	「植物ホルモンとは？そのはたらきと応用」と題した講演。	京都大学 宇治キャンパス	山口 信次郎
10月19日	名古屋大学 ホームカミングデー	大学生と保護者	自身の名大在籍時の研究生生活や経験、その後の進路などについての講演。	名古屋大学理学部	西浜 竜一
10月31日	植物の形づくり	高校生、教員	西宮東高校1年生に対する講義と本新学術領域での研究成果の解説。	西宮私立西宮東高校	柿本 辰男
11月7日 8日	中学生職業体験学習「イネの葉っぱでDNA診断をしてみよう！」	中学生	静岡県長泉町の中学生2年生へのDNAと遺伝のしくみと農作物の栽培化・品種改良の講義と実験体験。	国立遺伝学研究所	津田 勝利 野々村 賢一
12月22日	日本植物学会 一般講演会	一般	「庭の嫌われ者ゼンゴケから探る植物陸上進出の謎」と題した講演。	京都府立植物園 植物園会館	石崎 公庸
1月18日	東京理科大学 坊ちゃんLab	大学生	「アイシュタインのコンパスと一杯のお茶」と題した講演で、科学者を目指す大学生に植物の再生研究を紹介。	理化学研究所 横浜キャンパス	岩瀬 哲
2月4日	科学見学実習	高校生、教員	東京学芸大学附属高等学校の1年生への研究施設と研究内容の紹介。	東京大学大学院 理学系研究科附属植物園	杉山 宗隆
2月18日	科学者になりたいあなたへ	中学生、教員	横浜サイエンスフロンティア高校附属中学校3年生と教員に、植物の再生研究の概要を紹介。	理化学研究所 横浜キャンパス	岩瀬 哲
2月20日 21日	奈良先端科学技術大学院大学・交流型インターンシップ「バイオ塾」	大学生	共焦点レーザー顕微鏡やフローサイトメーターを用いた体験実習。研究内容および最新研究機器の紹介。	奈良先端科学技術大学院大学	梅田 正明



東三河海洋環境探求講座臨海実習 (五島班)



SSH生の受入 (伊藤班)



研究所一般公開 (石川班)



名大MIRAI GSC (榎原班)



# 2019年度活動報告 activity report

## 国際シンポジウム「Principles of pluripotent stem cells underlying plant vitality」

令和元年5月11日～14日に、国際シンポジウム「Principles of pluripotent stem cells underlying plant vitality」を東北大学片平キャンパスで開催いたしました。参加者は、154名(国外13名、国内141名)でした。プレナリートーク3題(ワシントン大学・鳥居啓子教授、カルフォルニア工科大学・Elliot Meyerowitz教授、基礎生物学研究所・阿形清和教授)、口頭発表35題、ポスター48題と多くの発表がありました。

植物と動物の幹細胞研究者による最新の知見が発表され、幹細胞システムに関して活発な意見交換が行われました。4日間の期間中、質疑応答時間やコーヒーブレイク、懇親会で常に研究討議が活発に行われていました。

本シンポジウムを準備して下さったオーガナイザーの先生方、およびシンポジウムの運営を行って下さいました東北大学・経塚グループの皆様にご心より感謝申し上げます。



## シングルセルRNA-seq解析講習会

令和元年9月24日～25日に、理化学研究所・横浜キャンパスで「シングルセルRNA-seq解析講習会」を開催いたしました。参加者は10名でした。

初日の前半は実験の説明及び実際シングルセル RNA-seqライブラリ作製に使われる機器のデモがあり、後半からはシングルセル解析(パイオインフォマティクス)に使われる基本的な理論などの説明がありました。2日目は主に使われる解析ツールの使い方などの説明の後、ハンズオンの時間があり、実際のデータでそれぞれ解析に挑みました。



## グレゴールメンデル研究所—九州大学間の国際研究交流

### 第3回若手の会

令和元年10月28日～30日に、熱海ニューフジヤホテルで「第3回若手の会」を開催いたしました。参加者は、56名(学生35名、ポスドク・研究員13名、ファカルティ8名)でした。今回は初めて全員英語での発表でした。初めての発表、あるいは初めての英語での発表という学生も多い中、皆さん時間もオーバーせず、とても上手に発表されていました。英語での質疑も積極的に有意義な議論も行われました。今後の活躍を期待させてくれます。



### 第5回幹細胞研究会

令和元年11月19日に、東京大学理学部2号館講堂にて「第5回幹細胞研究会」を開催しました。幹細胞研究会は、毎年、植物と動物の幹細胞研究者が一堂に会し、それぞれの幹細胞の類似点と相違点を議論する場として5回目の開催となります。当日の参加者は65名で、領域外の方にも多数ご参加いただきました。今回は趣向を変え、植物・動物の幹細胞について①1細胞解析、②数理解析、③メカノバイオロジーの3つ観点から若手の先生を中心に講演をいただきました。研究会では、幹細胞に共通する基盤原理についてのアイデア出しや活発な議論が交わされました。幹細胞とは「ゆらいでいる状態である」という話がとても印象的でした。



2019年5月に、オーストリア・ウィーンにあるグレゴールメンデル研究所より佐々木江理子博士を九州大学に招聘し、樹木個体内に存在する幹細胞のゲノム多様性について密な共同研究を行いました。すでにカバノキ属の樹木などを対象に、同一個体の異なる枝から抽出されたDNAをグレゴール・メンデル研究所との共同研究によりシーケンスをしていたため、招聘期間中は校間に存在する塩基多型を検出する際の問題点や、データ解析に用いるパイプラインの妥当性について検証する方法について連携研究者の手島康介博士も含めてディスカッションをすることができました。

グレゴールメンデル研究所は植物科学に特化した国立研究所で、分子生物学から集団遺伝学まで幅広い研究が行われています。招聘者は、シロイヌナズナの野生集団を用いた集団遺伝学の先駆的な存在であるMagnus Nordborg博士のグループに所属し開花時期やDNAメチル化の自然変異をもたらす遺伝的基盤について研究をしてきました。Nordborg博士は、応用的なゲノムワイド連関解析手法の確立などにより、野生集団中に見られる開花時期や病害抵抗性など、さまざまな表現型の違いを生じさせる遺伝的基盤や環境適応

佐竹暁子 (九州大学)  
佐々木江理子 (グレゴールメンデル研究所 (旧) /九州大学 (現))

を明らかにされてきました。また、ヨーロッパ圏を中心とした国際コンソーシアム1001ゲノムプロジェクトでも中心的な役割を果たしており、シロイヌナズナ野生集団のゲノム解析を精力的に行っておられます。このような環境で、招聘者はアメリカのSALK研究所との共同研究によって発展した1001エビゲノムプロジェクトに参画し、シロイヌナズナの野生集団中に見られるエピジェネティック修飾のバリエーションに関わる研究に携わり、DNAメチル化のレベルを調節している遺伝子多型や適応進化について明らかにしてきました。これらの解析技術や経験を応用し、本領域の研究課題である樹木個体内におけるエピジェネティック修飾の不均一性についても共同

研究を進めています。本招聘によって今後の研究計画も十分に練ることができました。研究室の学生にとっては、欧州でポスドクとして働くことができ、これから海外のラボへ飛び立つ意欲も高まったように思います。九州大学のゲノム科学・植物科学関連の研究者が集合した会合も開催し、研究に加えてライフスタイルや研究室運営について日本と欧州の相違や共通点を語り合うことができ、より広い視野から世界のアカデミアの現状をとらえることができました。ご支援いただいたことに、感謝いたします。ありがとうございました。



## INFORMATION

### A02班・佐竹先生が第16回日本学術振興会賞を受賞しました

本新学術領域研究のA02班・佐竹暁子先生が第16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、今後の佐竹先生のますますの研究のご発展をお祈り申し上げます。

この度のご受賞、まことにおめでとうございます。



## 2020年度の予定

2020年度	オンライン開催を検討中	第4回領域会議
	中止	第3回技術講習会
	時期未定	第4回若手の会 (担当：坪内、愛知県で開催予定)
	9月19～21日	日本植物学会第84回大会シンポジウム 「Cell fate regulation via cell-cell communication」 (担当：榊原、近藤、オンライン開催)
	12月3日	日本分子生物学会ワークショップ 「植物と動物の発生における非対称性創出の基盤原理の理解に向けて」 (担当：佐藤、神戸ポートアイランド)
	3月	第5回領域会議
	未定	第6回幹細胞研究会



梅田新学術領域研究がスタートし丸3年が経過し、このニュースレターも無事に3号を発行することができました。新学術領域研究の中間評価も無事高評価でクリアできたようで、メンバーの一人として嬉しく思うとともに、後半戦、植物幹細胞の基盤原理解明に向けて前進あるのみ、気を引き締めて研究に取り組みたいと思います。

さて、この編集後記を執筆している3月下旬での状況になりますが、コロナウィルスによる影響がますます大きく広がっています。3月に開催予定だった各種学会の年会・講演会、梅田新学術領域研究の班会議が中止となりました。筆者は、3月中旬に、米国で開催予定だったMaize Genetics Conferenceに参加する予定でした。留学先のボスが今年で引退することに伴い最後にこの学会でラボの同窓会を行うことになっていたのですが、残念ながら学会も同窓会も中止となりました。

Maize Genetics Conferenceのオーガナイザーは、中止となった学会の代替案としてバーチャルミーティングのようなものも検討しているようです。学会講演会の目的が、情報の共有や他者からのフィードバックならば、確かに、バーチャルミーティングで十分、いや、むしろ優れた点がありそうです。まず、混雑したポスター発表会場で、なかなか本命ポスターの発表が聴けないということは、バーチャルなら無さそうです。プログラム編成の都合で、演題がバッティングして聴けなくなることも回避できるかもしれません。コメントを文字で残せるのも発表者にとっては、ありがたいことです (特に国際会議で!)。また、音声認識によるキャプションやちょっとマシになってきた自動翻訳とのコラボも将来はありえるかもしれません。

今後影響が長引けば、学会講演会や班会議のバーチャルミーティング化も議論されるかもしれません。でもやっぱりバーチャルだけでは、残念です。リアル学会会場で発表する際の緊張感は、バーチャル形式では、再現が難しいのではないのでしょうか。過度の緊張はパフォーマンスを低下させますが、若い研究者や学生さんにとっては、学会発表当日の緊張を想像することで、準備の過程で発表内容やプレゼンテーションをより充実させる動機にもなっているように思います。今回のやむをえない学会等中止は、気合を入れて準備してきた学生さんたち (特に卒業される方々) には、残念な思いだったろうと察します。

学会やミーティングの効果は他にもあります。休憩室や懇親会で偶然知り合ったメンバーとの議論から発展した共同研究も意外と多いのではないかと想像します。口角泡を飛ばす植物幹細胞論議が気兼ねなくできる日が早く来ますように。出張や会議が次々とキャンセルされて思いがけずできてしまった時間にこんなことを考えてみました。みなさま、どうかご無事でお過ごしください。