

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

04

2021

March



17ドウ
04 20

MORISHIMA, Hiroko



PSC

NEWS LETTER Plant Stem Cells

2021 March 04



Contents

●巻頭言	01
●オビニオン	03
●公募研究の紹介	
A01: 幹細胞増殖	05
A02: 幹細胞性維持	13
●PSCフロントライン	19
●国際シンポジウム案内	26
●2020年度アウトリーチ活動	27
●2020年度活動報告	28
●編集後記	裏表紙

Foreword 巻頭言

コロナ渦の年となった2020年は、本領域の活動も様々な制約を受けました。まず、3月末に予定していた領域会議を延期し、新たな公募班員を迎えて5月に開催しようとしたのですが、それも適いませんでした。結局7月に16ヶ月ぶりとなる領域会議をオンラインで開催することとなりました。夏には植物を研究対象とする他の新学術領域にも声をかけて電顕技術講習会を開催する予定でしたが、実習を伴うため中止となりました。一方、学会のシンポジウムやワークショップは年会自体がオンラインに変更されたため、無事開催することができました。また、動物研究者を交えた幹細胞研究会はZoomで開催し、例年どおり活発な議論が交わされました。若手の会も12月にZoom開催しましたが、終わってみると、若手同士の交流はface to faceでないと厳しいという現実を実感することになりました。PI同士はオンラインでもある程度人的交流を継続できますが、若手研究者がパソコン画面越しに新たなつながりを作るのは至難の業です。2021年度はこの点について少し工夫をして、若手同士の交流をできるだけ活性化したいと考えています。

この一年間は様々な職種で何とかこのコロナ渦を乗り切ろうと様々な工夫が為されてきました。研究者は実験と議論を繰り返して論文を書くというサイクルをなかなか変えられませんが、それでも仕事の形態を変えることはできます。在宅勤務でデスクワーク漬けの方も多いと思いますが、だからと言って論文を書くスピードが上がったかというそうでもなく、知らず知らずのうちに社会の停滞感に飲まれているような気がします。このような生活が続く中で、科学が社会にうまく溶け込んでいないことを改めて実感しています。米国は言わずもがなですが、欧州でも同様です。ドイツのように医療と経済の両立を数理モデルで予測しているような国でも、なかなか国民は科学者の判断を受け入れられないようです。日本のことは敢えて書きませんが、例えば福島原発の汚染水の海洋放出なども同じような問題を抱えていると思います。人間は怖

いもの、嫌なこと、汚いもの、苦しいことは見たくない（想像したくない）という習性があるので、それに楔を打ち込むのが現代社会における科学の使命でもあります。現実には科学はそこまで信頼を得られていません。では信頼を得て社会に溶け込むには何が必要かということになりますが、最も大切なのは具体的な未来予想図を客観的かつ論理的に、わかりやすく伝えることではないかと思います。生物学者は仕事柄、エビデンスをたくさん積んで話したがりですが、社会に対しては、どのような将来を作るために今どう行動すれば良いのかをbig pictureとして見せることが大切です。本領域で取り組んでいるような基礎研究でも、幹細胞のことを様々な植物種で理解すれば、植物が地球上に繁茂し、何千年も生き続けるために備えている根源的な仕組みが見えてきます。これは進化上、脈々と受け継がれてきた仕組みであり、将来の地球環境をシミュレーションする上で大いに役立ちます。このようなbig pictureを社会に提示し、その上で今社会が為すべきことは何かを問うことが、この不確実性が増す時代に我々研究者に課せられた大きな使命でしょう。

さて、本領域は残すところあと一年となりました。まだ領域が発足したのが昨日のような感覚もあり、時の流れの早さを感じますが、ゴールが見えてきたので果敢にラストスパートをかけていくつもりです。目標は、上で述べたようなbig pictureにつながる成果を領域全体の力を結集して出すことです。すでに多くの成果が出ているので、それらを様々な形で国内外に発信していきたいと考えています。ラストスパートに向けて領域研究をさらに活性化するために、4月26日～28日に第二回国際シンポジウムを開催し、海外の最先端研究者を多数迎えて動植物の幹細胞に関する議論を行います。アジアー欧州ー米国間の時差は如何ともし難いですが、それを感じさせない、熱いシンポジウムにしたいと考えていますので、皆様も奮ってご参加ください。

2021年度は新型コロナウイルス感染拡大が落ち着き、研究交流の機会が増えることを祈っています。植物科学・生命科学分野に貢献できるようなしっかりとした成果を残せるよう、領域メンバー全員の力を結集して全力で取り組んで参りますので、引き続きご支援のほど、よろしくお願い申し上げます。

2021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



奈良市・大淵池の畔にて。後ろに見えるのは松柏美術館。

植物の幹細胞を考える

林 誠

理化学研究所 環境資源科学研究センター

新学術領域研究「植物多能性幹細胞」もあと1年ほどを残すばかりとなりました。領域が始まって以来、植物幹細胞をキーワードに集まった計画班・公募班の皆さんにより多くの成果が挙げられてきました。そこでこの機会に3つの問いに対して私見を述べることで、植物の幹細胞を見つめ直してみたいと思います。

1. 多能性幹細胞はどこにあるか？

維管束植物では胚発生時に形成された幹細胞が茎頂（シュート頂）と根端に存在し、生長した植物体を構成するほぼ全ての細胞はこれらの幹細胞に由来します。その中でも種子植物、特に被子植物では、茎頂に存在する形成中心がその上部に位置する複数の幹細胞を制御し、根端に存在する静止中心がその周囲にある複数の幹細胞を制御する、という概念が広く受け入れられています。すなわちこれら複数の細胞から構成される領域が幹細胞ニッチを規定していると言えます。また、この領域はオーキシンとサイトカイニンなどの濃度分布に影響され、この分布自体がニッチを規定しているとも考えられます。しかしながらこの概念では茎頂および根端幹細胞は限られた細胞種しか生み出さないことになり（例えば茎頂のL1に存在する幹細胞は表皮細胞系列）、多能性というよりはオリゴポテンシーと呼ぶべきかもしれません。

一方、形成中心および静止中心が幹細胞群であり、その周囲の細胞は前駆細胞であるという見方もできます。静止中心は歴史的に細胞分裂活性の低さから見出されたものですが、種により、生育ステージによって、また環境条件によって静止中心の細胞周期と細胞数は大きく変化します。また周囲に細胞を供給することもできることから幹細胞の定義には合致します。形成中心の発見は比較的新しく、ここで発現するWUSCHEL遺伝子が茎頂のサイズや無限生長性を制御していることからその機能が明らかになりました。こ

の領域は茎頂中央体の表層を除く外皮から内体にかけて存在し、分裂活性は低いものの垂層分裂とともに並層分裂も示すことから放射方向のみならず軸方向へも細胞を供給し、条件により分裂活性と分裂方向の頻度は変化します。もし静止中心および形成中心の細胞を幹細胞とみた場合、これらは多能性であると言えます。動物における多能性幹細胞は外胚葉・中胚葉・内胚葉由来の全ての組織に分化する能力がありますが、植物の組織も同様に表皮系・基本組織系・維管束系に分類でき、これら全ての組織に分化できる細胞が多能性幹細胞の概念に合致します。

種子植物以外の陸上植物、すなわちコケ植物・ヒカゲノカズラ類・シダ類では単一あるいは複数の頂端細胞が存在し、細胞系譜の観点からこれらが幹細胞であると考えられています。ニッチ細胞についてはよく解っていません。分裂頻度から頂端細胞がニッチ細胞であるという見解もあり、またこれらは二律背反でなく頂端細胞が幹細胞性からニッチ細胞性の混在した状態であるとも言われています。あるいは種子植物と同様に、ホルモンの分布がニッチである可能性も考えられます。

特に種子植物における茎頂幹細胞の同定は重要であり、それは植物における生殖系列のジレンマとも言えるべき細胞分裂回数の問題があるからです。生殖細胞は胚発生時に形成された茎頂幹細胞に由来しますが、もしライフサイクルを通じて幹細胞が頻繁に分裂した場合、動物細胞で見られるヘイフリック限界は生じないのか、あるいは長期間に渡り栄養生長を続けることで幹細胞ゲノムに変異が蓄積しないのか、ということです。幹細胞がまれにしか分裂せず、生殖細胞系列につながるという考えは過去に待機分裂組織説で提唱されましたが、これは広い支持を受けることがありませんでした。植物幹細胞の独自性を考える上で、その特徴づけは中心的な課題になると考えられます。

2. 植物細胞は全能性か？

胚発生段階で生じた2種の幹細胞、茎頂幹細胞と根端幹細胞は生長を通じて維持されており、通導組織である維管束の幹細胞、側生器官である腋芽と側根の幹細胞もそれぞれ茎頂幹細胞、根端幹細胞から幹細胞性を維持しているとされています。したがって植物体に存在する全ての幹細胞は胚発生時に形成された幹細胞に由来し、地上部の幹細胞は地上部の、地下部の幹細胞は地下部の由来となることから多能性幹細胞であると言えます。しかしながら不定芽や不定根の形成を考えると、それらを生み出す幹細胞は茎頂幹細胞あるいは根端幹細胞と連続していたとしても同一のアイデンティティを有しているわけではなく、したがって多能性より全能性に見えた方がよさそうです。一方、茎頂の切り込みや根端の切除によって残存した未分化細胞から新たな形成中心や静止中心が生まれることから、発生における幹細胞の連続性は疑われます。これはカルスからの再生についても同様です。一つの考えとしては未分化な細胞は幹細胞性を維持しているという見方です。しかしながら分化した表皮細胞や葉肉プロトプラストからの再分化に見られるような個体再生では未分化性は必要条件とはなりません。果たして植物の幹細胞性とは一体どのように捉えたらいいのでしょうか？分化細胞が内的・外的要因により幹細胞性を獲得すると考えた場合、幹細胞に必要な条件とは何でしょうか？

3. 植物の幹細胞はどのようにしてできたか？

複数の分化細胞系列より構成される多細胞生物にはこれらを生み出す多能性幹細胞が必要です。植物と動物は進化的に独立して多細胞性を獲得したことを考えると、多細胞化に必要な幹細胞にどの程度の共通性があるか、疑問かもしれません。しかし幹細胞としての機能制約から収斂進化を仮定すると、多細胞化に先だって必要だった共通祖先形質が存在する可能性は高いと考えられます。陸上植物に見られる立体的な多細胞性は等分裂による直線的な構造から進化したと考えられ、これには分枝が重要になります。分枝に必要な形質として先端生長と非対称分裂が挙げられま

す。これらの形質はシャジクモ類を含むフラグモプラスト植物の基部で獲得されました。先端生長と細胞板形成にはどちらも細胞内小胞の極性輸送が必要であることから、分枝の前提条件としての極性輸送が植物と動物における幹細胞性の獲得に必要な共通祖先形質かもしれません。同時に原形質連絡を獲得したことは細胞間物質移動が細胞の非対称性を調節することに重要であることを示唆しています。事実、細胞運命を細胞非自律的に決定する転写因子の移動は原形質連絡を経由することが明らかとなっています。植物は細胞壁を有していることから、原形質連絡の獲得は分裂後の非対称性確立に重要であったと思われます。

維管束植物の栄養体は複相の孢子体であり、コケ植物の孢子体は頂端に生殖組織を有する直線状に有限生長する構造です。コケ植物の孢子体には永続的な幹細胞は見られません。一方、ヒカゲノカズラ類とシダ類のシュートは二叉分枝により無限生長し、頂端細胞が存在します。幹細胞が細胞群で構成される種子植物では腋芽を伴い単軸分枝します。したがって、器官レベルでの分枝の獲得にも幹細胞が必要であると言えます。コケ植物の配偶体では二叉分枝や単軸分枝が見られます。これらには頂端細胞が存在することから、維管束植物の分枝はコケ植物配偶体の分枝と相同なのかもしれません。加えて維管束植物では複数回独立に根を獲得しましたが、これもヒカゲノカズラ類に見られる二叉分枝とシダ類・種子植物に見られる単軸分枝があります。配偶体・孢子体にかかわらず既にシュートという形質が存在したこと、シュートと根は相似であることを考えると、根の獲得はシュートと共通した分子機構に由来する、いわゆるディーブホモロジーによると考えていいと思います。

現生の植物は多様性として捉えられると共に、進化における機能獲得（と喪失）の違いから形質の進化における指標ともなり得ます。ゲノム情報の蓄積により、基部植物の遺伝子機能から祖先形質が議論されます。しかし基部植物の形質は共通祖先の形質ではありません。陸上植物の共通祖先のゲノムを再構成することで祖先形質を再現できれば、幹細胞の進化と原理についてより深い理解が得られると考えられます。



A01 幹細胞増殖

シュート再生過程における 頂端分裂組織幹細胞ニッチの 新生と転換およびその制御機構



研究代表者

杉山 宗隆

(現) 東京大学大学院理学系研究科 准教授
東京大学大学院理学系研究科 教授
(2021年4月より)

植物は生涯に亘り、地上部では茎や葉といったシュート器官を、地下では根を作り足して、体を大きく複雑にしていきます。このような植物の体作りのもととなっているのは、茎の先端にあるシュート頂分裂組織 (SAM) と、根の先端にある根端分裂組織 (RAM) という、2つの頂端分裂組織です。頂端分裂組織には、自らの性質を維持しながら分裂を続ける幹細胞と、幹細胞を取り巻く微環境 (幹細胞ニッチ) が備わっており、それが頂端分裂組織の持続的な活動を実現しています。

頂端分裂組織は、ふつうの発生過程では、しかるべき決まった場所に生じるのですが、様々な刺激に応じて、本来とは異なる場所に生じることもあります。そうすると、そこからシュートや根の器官が丸ごと作られることになります。これが植物の器官再生です。園芸や農業でよく使われる栄養繁殖にも再生現象が含まれており、例えば、挿し木による不定根の形成は根の再生、葉挿しによる不定芽の形成はシュートの再生です。

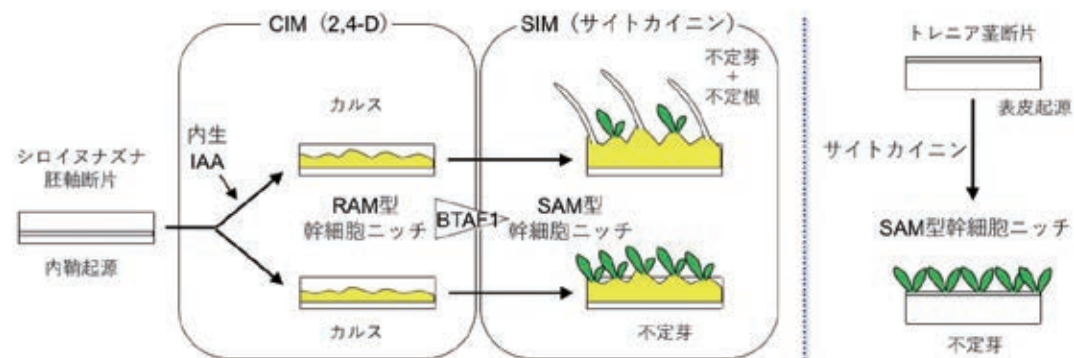
植物の組織培養では、植物ホルモンを操作して、器官再生を制御します。シュートを再生させたいときには、オーキシシン (とくに有効なのは合成オーキシシンの2,4-D) を多く含むカルス誘導培地 (CIM) とサイトカイニンを多く含むシュート誘導培地 (SIM) で順次組織片を培養する、2段階法が広く用いられています。最近の研究から、CIMで形成されるカルスは維管束の周りの比較的未分化な組織 (内鞘) に由来し、様々な面で根に似ていることがわかってきています。このカルスはRAM型の幹細胞ニッチをもち、SIMにカルスを移植すると、それがSAM型に転換して、やがて不定芽のSAMの構築に至ると考えられます。

一方、植物によっては、一段階の培養で、より分化の程度の高い組織から、不定芽のSAMがいきなりできるような、直接シュー

ト再生も知られています。トレニアの茎断片からのシュート再生はその好例で、サイトカイニンを含む培地で培養すると、表皮細胞が分裂を始めて、不定芽SAMを構築します。このような直接シュート再生では、2段階式のシュート再生とは異なる経路で、SAM型の幹細胞ニッチが新たに生まれているものと思われます。

私たちは、こうしたシュート再生過程において、その鍵を握る幹細胞ニッチの動態がどのように制御されているかを明らかにすることを目指して、研究を進めています。研究に用いているのは、シロイヌナズナの2段階式シュート再生系と、トレニアの直接シュート再生系です。現在はこれら2つのシュート再生の共通点と相違点から、SAM型の幹細胞ニッチが生まれるまでの分子の枠組みの中で、核となる必須部分と柔軟性がある部分をそれぞれ捉えようと、遺伝子発現の大規模な比較解析を行っているところです。

並行して、シロイヌナズナの2段階式シュート再生系では、RAM型幹細胞ニッチからSAM型幹細胞ニッチへの転換に的を絞った解析も行っています。これまでに、各種の阻害剤や変異体を用いた解析から、カルスが自ら作り出したオーキシシン (内生IAA) は培地に投与した2,4-Dとは異なる作用をもち、シュート再生能を抑えるようにはたらくことや、TATA結合タンパク質関連因子のBTAF1をコードするRGD3がSAMの構築に必須であることなどを見出しています。これらの結果を幹細胞の観点から見ると、RAM型幹細胞ニッチの状態を内生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。今後の研究で、その詳細を解き明かしたいと考えています。



腋芽メリステム確立時の 幹細胞の維持機構



研究代表者

田中 若菜

広島大学大学院統合生命科学研究科 助教

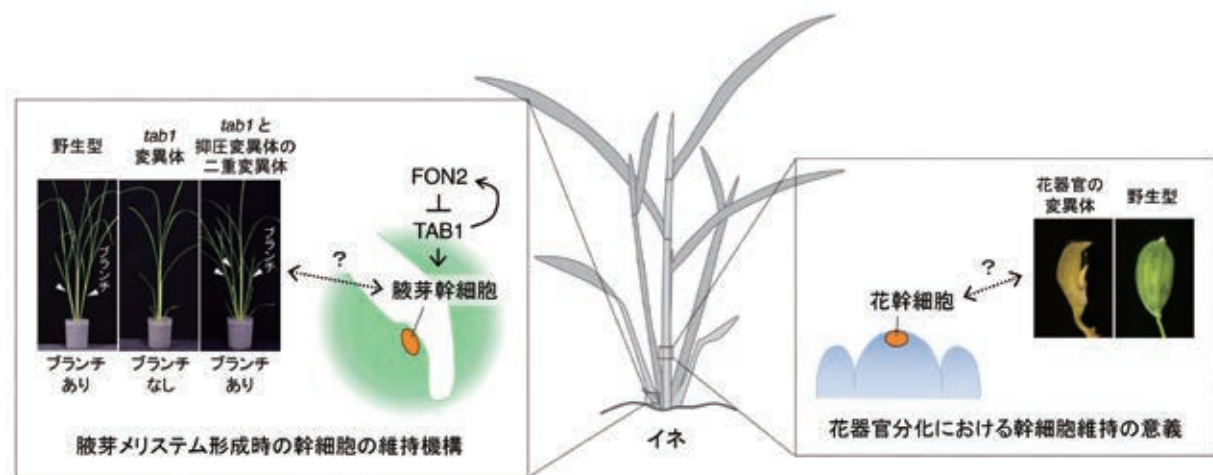
植物の形づくりは、頂端分裂組織 (メリステム) に含まれている幹細胞の働きに大きく依存しています。それら幹細胞は、増殖して自身を常に一定数に保っているのと同時に、新しい組織や器官を分化するための細胞を供給しています。この幹細胞の自己増殖と分化への細胞供給のバランスを調節することを「幹細胞の恒常性維持」と言い、器官形成などの植物の形づくりにとって極めて重要です。

地上部の頂端メリステムの幹細胞は、胚発生時に出現してシュート頂メリステムの中で維持される場合と、胚発生後のライフサイクルに応じて新たに出現して維持されていく場合があります。後者の場合、栄養成長期には、葉の付け根に幹細胞 (腋芽幹細胞) が出現し、それを基に、ブランチをつくる腋芽メリステムが形成されます。生殖成長期には、花メリステムの幹細胞 (花幹細胞) が出現し、これに由来する細胞から雄ずいや雌ずいなどの花器官が形成されます。これら2次的に出現する幹細胞は全て、発生学的には「腋生幹細胞」と呼ばれています。植物は、これら腋生幹細胞の働きにより、ブランチや花器官を含む多くの器官を形成することが可能となっているため、腋生幹細胞の維持機構を明らかにすることは重要です。しかしながら、腋生幹細胞に着目した研究は十分に行われていないのが現状です。

私たちのグループでは、単子葉類のモデル植物イネを材料として、腋生幹細胞の恒常性の維持機構を分子遺伝学的に明らかにすることを目指して研究を行っています。これまでに、栄養成長期

の腋芽幹細胞に着目して研究を進めてきました。ブランチが形成されない *tillers absent1 (tab1)* 変異体を詳しく調べ、*TAB1* 遺伝子が腋芽メリステム形成時の幹細胞を維持するために必要な遺伝子であることを突き止めました (Tanaka et al., Plant Cell, 2015; Tanaka and Hirano, New Phytologist, 2020)。この *TAB1* 遺伝子は、シロイヌナズナのシュート頂メリステムにおいて幹細胞維持を促進する WUSCHEL に最も近縁なタンパク質をコードしています。さらに研究を進め、*FLORAL ORGAN NUMBER2 (FON2)* という遺伝子が、*TAB1* 遺伝子の発現を抑えることにより、腋芽幹細胞維持の抑制因子として働いていることも見出しました (Tanaka and Hirano, New Phytologist, 2020)。すなわち、イネでは、腋芽メリステム形成時の初期に出現した腋芽幹細胞は、促進因子 *TAB1* と抑制因子 *FON2* の機能のバランスによって維持されており、その腋芽幹細胞の維持が、腋芽メリステムの形成とその後のブランチ形成に必要であることを明らかにしました。

本新学術領域研究では、腋芽幹細胞を維持するために働く遺伝的ネットワークのさらなる理解を目指して、*tab1* 変異体のブランチ形成不全を抑圧する突然変異体に着目して研究を実施しています。また、花器官の形態に異常を示す突然変異体を用いて、花器官分化における幹細胞維持の意義を明らかにするための研究も行っています。



A 01 幹細胞増殖

従来の想定になかった幹細胞維持と分化多能性獲得の分子機構



研究代表者
打田 直行

名古屋大学遺伝子実験施設 教授

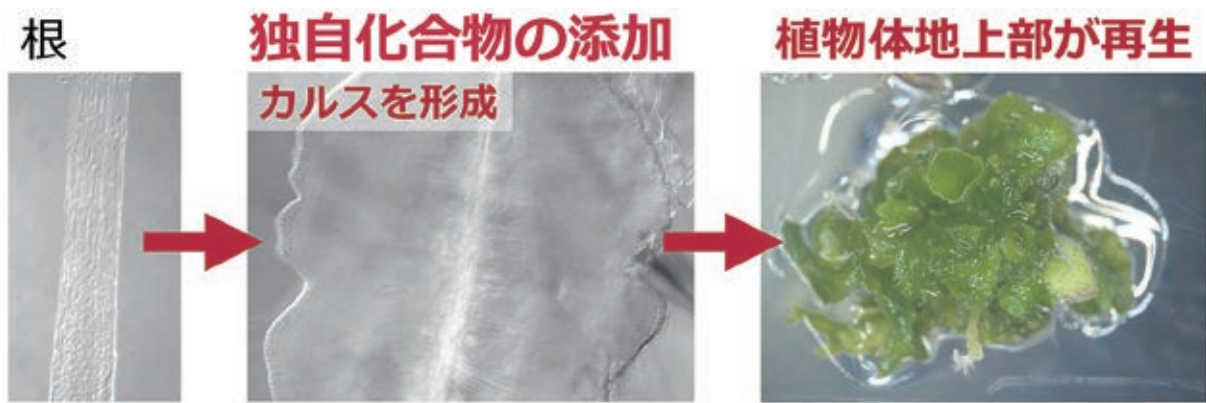
多くの植物の地上部組織・器官の全てを生み出す源は、茎の先端に一生を通じて分化多能性を持ったまま維持される茎頂幹細胞です。この茎頂幹細胞は、植物の永続的で旺盛な生命力の根源の大きな1つとして、植物研究者の興味を魅き続けてきました。本研究では、この茎頂幹細胞の「維持」と「分化多能性の獲得」のそれぞれの仕組みに関して、従来の想定になかった全く新しい観点の提唱と理解につながる研究を進めます。

茎頂幹細胞の維持機構を理解する上での金字塔的存在は、モデル植物のシロイヌナズナの分子遺伝学的研究により同定された転写因子WUSです（1996年にLauxらが報告）。このWUSの機能が欠損した変異体（*wus*変異体）では幹細胞が維持できずに消失します。そして、この*wus*変異体の幹細胞不全を回復（抑圧）できる仕組みの例が無かったことから、その二十数年間にわたりWUSは茎頂幹細胞を維持するための必須因子とみなされ、シロイヌナズナで明らかにされた従来の幹細胞制御モデルはWUSを中心に描かれてきました。

私たちは以前に、茎頂幹細胞の新制御因子として*ERECTA*ファミリーと呼ばれる遺伝子群を見出していました。この*ERECTA*ファミリーが欠損する変異体では、茎頂に維持される幹細胞数が増えます。そして最近、驚くべきことに、この*ERECTA*ファミリーの変異体においては、WUSの機能を失った状態でも幹細胞が維持され続けることを発見しました。すなわち、従来の想定に無かった「WUSに依存しない」新しい幹細胞維持機構が存在し、*ERECTA*ファミリーがその機構を通常は抑制している、と考えられます。そこで、本研究では、この新たな機構の詳細に迫ることを目指します。

茎頂幹細胞の他の興味深い点の1つは、根や葉などの分化した組織から分化多能性を持つ茎頂幹細胞を人為的に再生できることです。この茎頂幹細胞の再生工程はシュート再生と呼ばれ、多様な植物種の人工繁殖や外来遺伝子導入個体の創出にも頻用されます。シュート再生においては、まず分化組織を切り出し、その断片を植物ホルモンのサイトカイニンとオーキシンを適量加えた培地で培養し、未分化な細胞塊（カルス）を作り出します。このカルスをシュート誘導培地と呼ばれる培地に移すと茎頂幹細胞が生まれ、地上部が再構成されます。この達成は、「分化多能性幹細胞を生み出せる能力を持つ」カルスを作れるかどうかで決まります。しかし、そのような「分化多能性幹細胞生成能を持つカルス」を持つカルスが作れるかどうかは、添加ホルモン濃度の条件検討などの試行錯誤に頼っているのが現状です。実際、どうしてもシュート再生しない植物種も多く、その克服が待たれています。

この状況の中、私たちは、植物体の断片化もホルモン添加も行わずにただ投与するだけで根がカルス化する独自化合物を発見しました。そして、この化合物が生み出すカルスをシュート誘導培地に移すと植物体地上部が再生しました。すなわち、この化合物には「分化多能性幹細胞生成能を持つカルス」を生み出す作用があると言えます。この化合物によるカルス化には植物体の断片化もホルモン添加も必要ないこと、また、その分子構造が既存の植物ホルモンのどれにも類似していないことも踏まえると、この化合物は従来の理解には無い分化多能性獲得の仕組みを作動させている可能性が想定されます。そこで、この化合物の作用機序の解明を進めることで、分化多能性獲得の新たな側面を開拓したいと考えています。



低オーキシン応答性の確立による幹細胞形成

陸上植物の成長や発生の基盤となる幹細胞は、種子植物では受精卵からの胚発生過程において、コケ植物では孢子からの発生過程において規定されます。動物では受精卵が最も高い分化能をもった幹細胞と位置付けられていて、発生の過程で幹細胞の分化能は次第に限定されていきます。植物の幹細胞が、同様に受精卵や孢子の分化能が限定されることで規定されるのかについてはよくわかっていません。私たちはコケ植物苔類ゼニゴケを用いて、植物の幹細胞がどのように規定されるのか明らかにしようとしています。

植物幹細胞の規定には、主要な植物ホルモンであるオーキシンが関わる事が知られています。私たちはこれまでに、ゼニゴケの孢子においてオーキシン信号伝達を完全に阻害すると、形態形成をまったく行わず、いつまでも無秩序な細胞分裂を繰り返す細胞塊になる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幹細胞の規定に必要であることがわかってきました。さらにその他の解析から、幹細胞とその周辺の領域ではオーキシン応答性が異なっている可能性が示唆されました。

ところで、植物は傷害を受けると新しい植物体の再生がよく起こりますが、そのときには増殖を停止していた細胞がリプログラミング（初期化）を受けて細胞分裂を再開し、新しく幹細胞を形成します。コケ植物は特に高い再生能力をもっていて、古くから研究の対象となっています。19世紀後半には、ドイツの植物学者Hermann Vöchtingが、ミカヅキゼニゴケの葉状体からの再生には方向性があることを報告していました。その論文では、葉状体断片を成長点を含む断片と含まない断片に二分すると、前者（頂端側断片）では切断面では何も起こらず成長点からそのまま成長し、後者（基部側断片）では元の成長点に近い側の切断面からのみ再生芽が形成されたとの記述がありました。また、成長点を完全に切除することが再生芽形成には必要で、切込みを入れるだけでは再生が起こらないことも記述されていました（図に私たちがゼニゴケで同様の実験を行った結果を示します）。そのため、成長点から何らかの再生を抑制する物質が放出されていると考えられるようになりました。

その後、半世紀以上経って、ミカヅキゼニゴケとゼニゴケで、オーキシンを与えると再生が阻害されることが報告されました。また最近になって、ゼニゴケではオーキシンは成長点付近で合成されることが報告されました。私たちの研究グループでは、ゼニゴケが再生するときの細胞周期活性化のメカニズムに興味をもって研究を進めていましたので、オーキシンが成長点から放出される再生抑制物質であると考えて、その抑制メカニズムを調べる研究

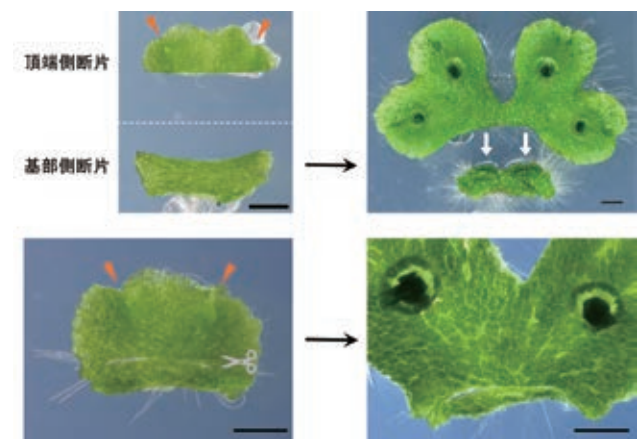


研究代表者
西浜 竜一

（現）京都大学大学院生命科学研究科 准教授
東京理科大学理工学部応用生物科学科 教授
（2021年4月より）

に着手しました。これまでに、頂端側断片に比べて基部側断片の切断面ではオーキシン濃度が一時的に低下することを見出し、さらにオーキシン濃度低下に応答して発現が誘導されるLOW AUKIN RESPONSIVE (LAXR)と命名した転写因子を同定しました。LAXRを強制的に過剰発現すると、オーキシンを与えても再生の抑制が見られなくなりました。また、通常は分裂しない細胞が分裂するようになりました。これらの結果から、葉状体を切断すると成長点を含まない断片でオーキシン濃度が低下し、それに応答したLAXRの誘導により、分化した細胞がリプログラミングされることが示唆されました。

以上の結果から、低いオーキシン応答性が幹細胞の規定や形成と関連があることが示唆されました。本研究では、低いオーキシン応答性の確立や、それによる幹細胞の規定が、どのような遺伝子制御ネットワークにより起こるのかについて解明していきます。また、エピジェネティック情報やクロマチン状態の解析、また1細胞解析によって幹細胞の性質を明らかにする研究も進めています。



図：（上）ゼニゴケ葉状体を成長点を含む頂端側断片と含まない基部側断片に分けて培養を行うと、基部側断片の頂端側の切断面からのみ再生芽（白矢印）の形成が見られ、頂端側断片の切断面では再生芽形成は起こらないことを示した図。

図：（下）葉状体に切込み（ハサミ）を入れるだけでは再生は起こらないことを示した図。矢じり：成長点。スケールバー：2 mm。

A01 幹細胞増殖

シュート幹細胞形成における植物ホルモン微環境の構築メカニズム



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

植物体の地上部器官のおおもとであるシュート幹細胞群は、胚発生でつくられます。この時、シュート幹細胞群を内包する組織である茎頂分裂組織は、細胞分裂により水平方向へ拡大を開始し、芽生えの時期までにドーム状の形状を示すようになります。その後の発生でも、茎頂分裂組織の水平方向への成長は維持されますが、葉原基では組織の成長が一転して垂直方向にシフトします。このように、シュート幹細胞群は、動的な構造である茎頂分裂組織の中で形成され、その後一生に渡って維持されるのです。

これまでにシュート幹細胞群の維持に関わるWUS、CLV3、STMなど、鍵となる調節因子が同定されるとともに、幹細胞維持に対するオーキシン・サイトカイニンなど植物ホルモンの役割についても理解が進んできました。一方で、植物の基本体制が構築される時期である胚発生においては、オーキシンとサイトカイニンそれぞれのシグナルの適切なバランスが、シュート幹細胞の形成に重要であることが分かってきているものの、その具体的な調節メカニズムについての理解は不十分なままです。

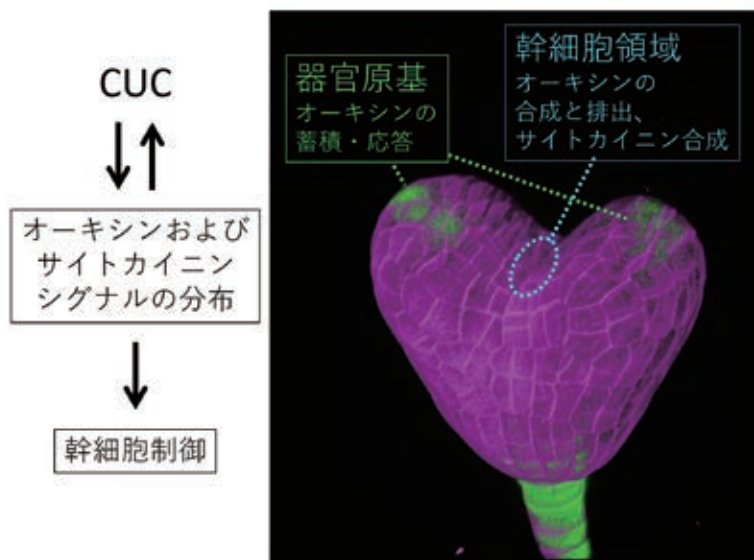
私たちはこれまで、シロイヌナズナの転写因子CUC1・CUC2・CUC3がシュート幹細胞の形成に必須であることを見いだしてきました。CUCの機能が欠損した変異体では茎頂分裂組織の形成が阻害され、シュート幹細胞群が欠損します。また、前回の公募研究において、CUCがオーキシン生合成経路の主要遺伝子であるYUC1とYUC4の発現を促進すること、オーキシンの極性輸送を促進すること、およびオーキシン応答性リポーターで

あるDR5の正常な発現パターンに必要なであることを明らかにしました。一方で、私たちは、CUCタンパク質の直接の標的遺伝子の探索から、サイトカイニン生合成に関わる転写因子をコードするSTMを同定しています (Aida et al 2020, Int J Mol Biol)。以上の結果から、CUCがオーキシンスイグナルとサイトカイニンシグナルを複合的に制御することでシュート幹細胞の形成に適した微環境を生み出す、という仮説を得るに至りました。

そこで今回の公募研究では、高感度のオーキシン応答レポーターおよびサイトカイニン応答レポーターを用い、野生型およびCUCの機能欠損変異体と過剰発現体における各レポーターの発現を調べることで、シュート幹細胞形成時の各ホルモンシグナルの時空間的パターンを明らかにするとともに、CUCがホルモンシグナルに与える影響を明らかにしようとしています。また、胚珠培養系を利用して、阻害剤によりホルモンシグナルを攪乱したときの幹細胞形成への影響を調べることで、CUCと各ホルモン経路間の相互関係も明らかにしたいと考えています。さらに微小胚のトランスクリプトーム解析を行い、形成期のシュート幹細胞で特異的に発現する遺伝子群やCUCタンパク質の下流遺伝子群の中から、オーキシンおよびサイトカイニン経路に関わる遺伝子を重点的に選抜し、候補遺伝子について発現解析および遺伝学的な機能解析を行うことで、シュート幹細胞形成に対する影響を明らかにすることを目指しています。

【関連する研究成果論文】

Aida M, Tsubakimoto Y, Shimizu S, Ogisu H, Kamiya M, Iwamoto R, Takeda S, Karim MR, Mizutani M, Lenhard M, Tasaka M (2020). *Int J Mol Sci* 21, 5864. doi: 10.3390/ijms21165864



傷害に応答した幹細胞新生におけるヒストン修飾変化の作動原理



研究代表者
石川 雅樹

基礎生物学研究所 助教

多細胞体制の起点となる幹細胞は、生物個体の特定の場所に維持されており、種子植物では、メリステムと呼ばれている組織で維持され分化細胞を作り出します。分化細胞は、ヒストン修飾などのクロマチン修飾により、細胞固有の遺伝子発現パターンを維持し分化状態を保っています。ところが、植物体が傷害を受けると、傷害部位付近の分化細胞から幹細胞が新生し、器官再生、さらには、新しい個体を再生することがあります。この幹細胞新生は、植物生存の永続性や旺盛な繁殖力を支える分子基盤の一つですが、傷害刺激に応答して、分化状態を維持しているクロマチン修飾を変化させる仕組みについては分かっていません。

コケ植物ヒメツリガネゴケは、切断するだけで切断面に接した葉細胞が原糸体幹細胞へと変化します。私たちは、ヒメツリガネゴケのこの特性を生かして、発現させるだけで葉細胞の幹細胞化を誘導するAP2/ERF型転写因子STEMIN1を発見しました。STEMIN1は、直接の標的遺伝子上の転写抑制に機能する27番目のリジンがトリメチル化されたヒストンH3 (H3K27me3) 修飾レベルを細胞分裂前に減少させ、幹細胞化に必要な遺伝子発現を誘導します。H3K27me3修飾は、様々な生物において細胞

の運命決定に主要な役割を果たしており、植物では、H3K27me3修飾を触媒するポリコムタンパク質を欠失させると、分化状態の保持や発生プログラムの抑制が解除されます。従って、STEMIN1による特定の遺伝子領域でのH3K27me3修飾変化が幹細胞化誘導の鍵であると言えます。またSTEMIN1遺伝子は、発生過程の葉細胞では発現しませんが、葉を切断すると幹細胞化する細胞のみで発現上昇し、その遺伝子欠失株では切断による幹細胞化が遅れます。

そこで本研究では、STEMIN1を傷害刺激とクロマチン修飾を結びつける鍵因子として捉え、トランスクリプトーム解析などにより、傷害によるSTEMIN1遺伝子の発現制御機構を明らかにするとともに、インタラクトーム解析やクロマチン免疫沈降シーケンスを用いて、STEMIN1によるH3K27me3修飾変化を作用させる分子機構の解明を目指しています。STEMIN1ホモログは被子植物にも広く保存されているので、本研究により、傷害刺激に応答して分化状態を維持しているクロマチン修飾を変化させ幹細胞を新生させる植物全体の分子基盤の理解に繋がることが期待されます。

茎葉体



STEMIN1を発現させた葉



A 01 幹細胞増殖

傷害ストレス誘導性カルスの 幹細胞新生メカニズム



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

植物はその体内に保持する3つの多能性幹細胞、すなわち茎頂幹細胞、根端幹細胞および維管束幹細胞によって体作りをしています。単離した一つの細胞から植物体全体を再生させた1950年代後半～1970年代前半の種々の研究から、植物細胞は一度分化して特殊な機能を担った後でも、脱分化して全ての幹細胞を新しく生み出せることが証明されています。この幹細胞新生は、自然界においても試験管中の環境下でも、体に傷がつくことが引き金になることが多いです。傷口に作られるカルスと呼ばれる細胞の塊の中でも、幹細胞新生が起こることが知られています。カルスの細胞塊の内部を観察すると、様々な種類の細胞が混在しており、活発に細胞分裂をしているもの、大きく膨らんだもの、水を通すための管の細胞に変化したもの等があることが分かります。これは、カルスの継代培養が初めて報告された1930年代の研究論文でも示されています。ところが、カルスの細胞がどのような細胞の特徴を持ち、幹細胞に変化する細胞がどのように生み出されるのかについては多くが未だに謎のままです。

私はこれまで、シロイヌナズナやナタネを用いた研究で、傷によって遺伝子発現が上がり、傷害部位での細胞脱分化とカルス形成を促進するスイッチタンパク質（転写因子）を発見しています。また、この因子が、茎葉の再生を司る別の転写因子の遺伝子発現をONにすることを見出しています。植物は傷によって細胞の脱分化と幹細胞新生を促す分子の経路を持っているということです。この一連の研究過程から、傷によって誘導されたカルスの中で効率よく茎葉や根の幹細胞を新生するシロイヌナズナ植物体の作出に成功しました（図A）。この植物体は、実験を行った全ての組織（花茎、葉、子葉、根）の傷口でカルスを形成し、根のみならず茎葉の再生を高頻度で起こし、植物体まで再生させます。

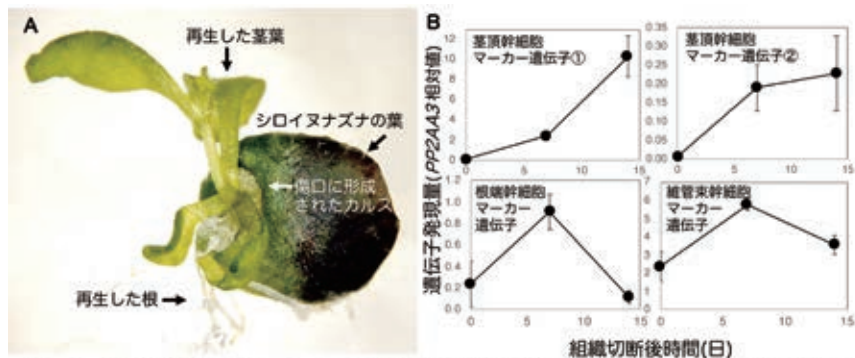


図. A: 再生に関与するスイッチタンパク質(転写因子)の遺伝子発現を操作することで、培地にホルモンを添加しなくてもカルスからの再生が促進するシロイヌナズナ植物体の作出に成功しました。B: この植物体では、葉組織切断後少なくとも7日までに、傷口にできるカルスの中で茎頂、根端、維管束それぞれの幹細胞(領域)を特徴づける遺伝子の発現が上昇していることが分かりました。

幹細胞新生を抑制する ホメオボックス型転写因子の機能解明



研究代表者

池内 桃子

新潟大学理学部 准教授

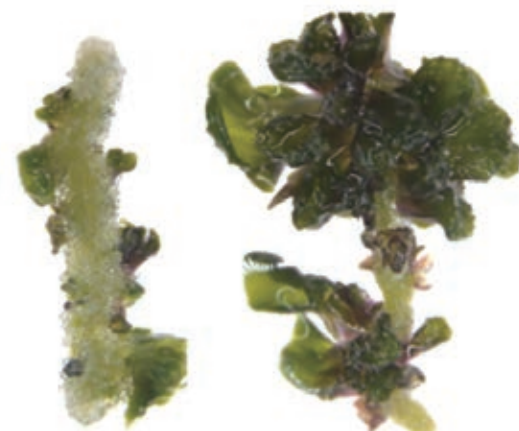
生物は生涯にわたって様々な傷害を受けるため、傷ついても組織を修復したり器官の一部からでも個体を再構築できる再生能力を持つことは重要な生存戦略です。植物は一般的に再生能力の高い生物であるといえ、器官の一部をオーキシンやサイトカイニンといった植物ホルモンを含む培地で培養することによって体細胞から幹細胞を新たに生み出し、器官や個体を再生することができます。しかし、植物種や品種によっては組織培養系を用いても器官再生を誘導できない場合もあり、再生能力を制限するなんらかの機構があるのではないかと想定されますが、その分子生物学的な基盤は不明でした。

私はこれまでに、モデル種子植物のシロイヌナズナを用いて傷口にカルスを形成する過程を制御する遺伝子群やホルモンのほたらき、そして組織培養において茎葉（シュート）を再生するメカニズムについて研究を進めてきました (Ikeuchi et al., 2017, Plant Phys; Ikeuchi et al., 2019 ARPB)。シロイヌナズナの標準的な組織培養系においては、まず胚軸や根の組織片をカルス誘導培地で数日間培養して、分化多能性を持ったカルスの形成を促します。その後で組織片をシュート誘導培地に載せ替えてさらに培養することによって、多能性細胞の分化運命を制御することで再生芽の形成を促すことができます。

これまでの研究において、再生過程で活発に発現する遺伝子に着目してその機能を調べていたところ、器官再生過程における幹細胞新生を制限する新規の遺伝子としてホメオボックス型の転写因子を発見しました。このホメオボックス転写因子の機能が欠

損した突然変異体においては、野生型に比べてより多くの再生芽が速やかに形成されるという劇的な表現型を示します。さらに、器官再生中の組織片を詳細に観察したところ、野生型の組織片ではカルスから再生芽にならない細胞が多数形成されているのに対して、ホメオボックスの突然変異体においては再生芽にならない細胞が著しく減少していました。したがって、この遺伝子は多能性を持ったカルス細胞が再生芽になるか・再生芽以外の細胞になるかという分化運命を制御することによって、再生芽の元となる幹細胞の形成を負に制御する機能を持つのではないかという仮説を立てています。

多能性を持ったカルス細胞から様々な性質を持った細胞が生み出されることは観察できましたが、器官再生過程でどのような細胞種が生み出されるのかについてはほとんど知見が得られていませんでした。そこで、細胞ひとつひとつの遺伝子発現プロファイルを調べる1細胞RNA-seqと呼ばれる新しい研究手法を用いて、野生型とホメオボックスの突然変異体を比較する解析を行っています。また、私が着目しているホメオボックス型転写因子は他の遺伝子のON/OFFを調節する機能を持つと考えられますので、どのような遺伝子を制御しているのかについても解明を進めています。本研究によって、植物が持つ再生能力の調節機構を明らかにしていきたいと考えています。本研究が完成すれば、再生しづらい植物種について再生能力を向上させる技術の開発にもつながる応用展開が大いに期待できます。



野生型（左）とホメオボックス
転写因子の突然変異体（右）

A02 幹細胞性維持

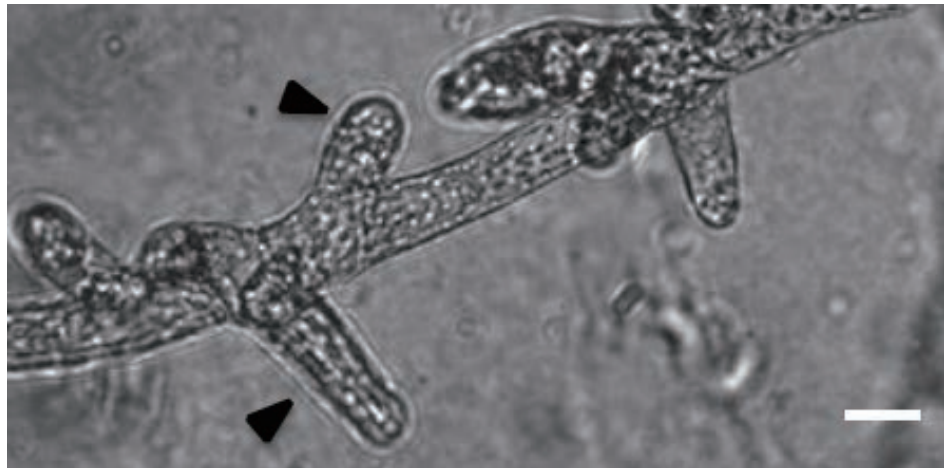
コケ植物から解き明かす植物幹細胞に特有の動作原理



研究代表者
藤田 知道
北海道大学大学院理学研究院 教授

幹細胞は多細胞生物を形作るために特別に重要な細胞です。幹細胞は自己複製し元と同じ幹細胞を生み出すとともに分化した細胞も生み出します。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。植物では被子植物の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少しずつ明らかになってきました。しかし植物幹細胞における非対称性の形成（極性形成）や不等分裂のしくみの全体像はまだよくわかっていません。またこのようなしくみが動物の幹細胞と比べてどの程度違うのかなどもよくわかっていません。私たちのグループではモデルコケ植物ヒメツリガネゴケの原系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、陸上植物における幹細胞の制御の多様性や普遍性の解明、あるいは植物幹細胞の進化の理解を目指します。さらに動物と植物の幹細胞の形成や維持などその制御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系体の頂端幹細胞は細胞が露出しており生きたまま容易に観察できます。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。私たちはこれまでの研究で原系体頂端幹細胞の分裂様式の制御に関わる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、植物に特有の転写因子が、水チャネルであるアクアポリンの制御を通じて液胞の形態や大きさの変化などを制

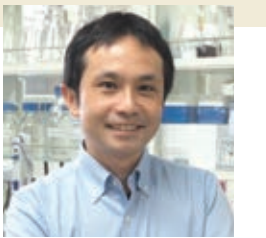


図：小さな細胞膜局在の糖タンパク質がヒメツリガネゴケ頂端幹細胞の新生を攪乱している

御し、また細胞壁の均一な再生に関わるなどにより、頂端幹細胞の不等分裂を制御していることを見出してきました。また、細胞膜に存在する比較的小さな膜タンパク質が分裂様式の切り替えや新しく幹細胞を形成するために、オーキシシン情報伝達因子や細胞骨格の制御を通じて、重要な働きをしていることも見出てきました。そこで私たちはこれらの研究をさらに発展させ、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、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の制御も重要です。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、植物では特有の構造である原形質連絡（プラスモデスマータ）が重要な働きをしています。ヒメツリガネゴケの原系体においても、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、隣の分化した細胞が幹細胞化することが知られています。しかし原形質連絡を制御する因子や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はまだよくわかっていません。そこで私たちはヒメツリガネゴケの原系体が、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着目し、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確立してきました。そして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種類明らかにしてきました。現在は、これらの因子を手掛かりに原形質連絡の制御のしくみと、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。

細胞運命決定に影響を及ぼすDNA損傷・修復・クロマチンの時空間的クロストーク



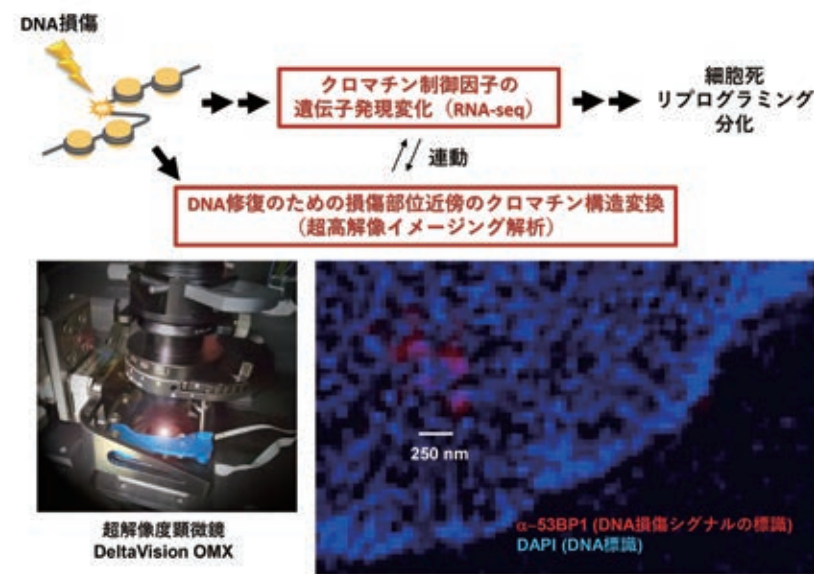
研究代表者
柴田 淳史
群馬大学未来先端研究機構 准教授

多能性幹細胞の運命決定に影響を及ぼす因子の一つとして細胞核内のクロマチン制御が挙げられます。そこで私たちの研究室では、クロマチン制御に深く関係するDNA損傷修復に着目することで、クロマチン制御から多能性幹細胞の運命決定までの分子機構を解き明かすべく研究を進めています。

細胞核の中で二重らせんを形成するDNAは、ヒストンと呼ばれるタンパク質に結合します。ヒストンは4種のコアヒストン(H2A、H2B、H3、H4)から構成され、DNAと結合してヒストン8量体を形成します。これらの構造体はヌクレオソームと呼ばれ、その集合体をクロマチンと呼びます。細胞核内でクロマチンは密になった構造（ヘテロクロマチン）や緩んだ構造（ユークロマチン）を形成し、時と場合に応じてその構造を変化させます。生きている細胞の中では、様々な内的外的因子を介して常にDNA損傷が発生しますが、細胞は傷ついたDNAを迅速かつ正確に修復するように試みます。最近の研究からDNA損傷発生に伴い、クロマチン構造が変化することが明らかになってきました。しかしながら、DNA損傷に応答したクロマチン構造の変換様式は多彩であり、細胞がどのような意義を持ってクロマチン構造を変化させているか未だ多くが明らかになっていません。そこで私たちは、DNA損傷部位、特にDNA二本鎖が同時に切断された場合のクロマチン制御に着目し、そのクロマチン制御が多能性幹

細胞の運命決定にどのような影響を及ぼすのかを明らかにしようとしています。クロマチン構造を可視化する方法はいくつか開発されていますが、私たちは超高解像イメージング解析を使って、DNA切断部位周辺に対するクロマチン構造変化の分子機構を明らかにしようとしています。またもう一つの試みとして、DNA損傷により誘発されるクロマチン変化と遺伝子発現の分子機構を明らかにしようとしています。私たちは近年、DNA損傷がいくつかのヘテロクロマチン構成因子の遺伝子発現量を低下させることを発見しました。ヘテロクロマチン構成因子の発現低下はクロマチン弛緩を引き起こすと考えられます。そこで私たちは、DNA損傷を受けた細胞がどのような目的でヘテロクロマチン構成因子の発現を低下させるのか、すなわち、損傷を受けた細胞の細胞運命決定に対し、クロマチン弛緩がどのような形で寄与するのかを明らかにしたいと考えています。

幹細胞はそのゲノム情報を正確に受け継ぐためにDNA損傷後は高頻度で細胞死を引き起こすことが知られていますが、一方で軽度のDNA損傷では細胞の初期化といわれるリプログラミングや細胞分化を誘導する可能性が示唆されています。DNA損傷・修復・クロマチンのクロストークを主軸とした分子機構を解明することで、多能性幹細胞のゲノム維持機構および多能化機能の発揮に関わる生命応答の統合的理解がより深まると考えています。



図：超高解像度蛍光顕微鏡（3D-SIM, OMX）によるDNA二本鎖切断部位とクロマチン構造の可視化
上図に本研究の概略を示す。下図では超解像度蛍光顕微鏡で撮影した細胞核の一部を示す。DAPI染色の濃い部分はヘテロクロマチン領域、薄い部分はユークロマチン領域を示唆している。53BP1はDNA二本鎖切断近傍に集積する修復タンパクであり、DNA損傷部位の標識として用いられる。

A02 幹細胞性維持

植物の幹細胞新生を統御する分子ネットワークの解明



研究代表者

下遠野 明恵

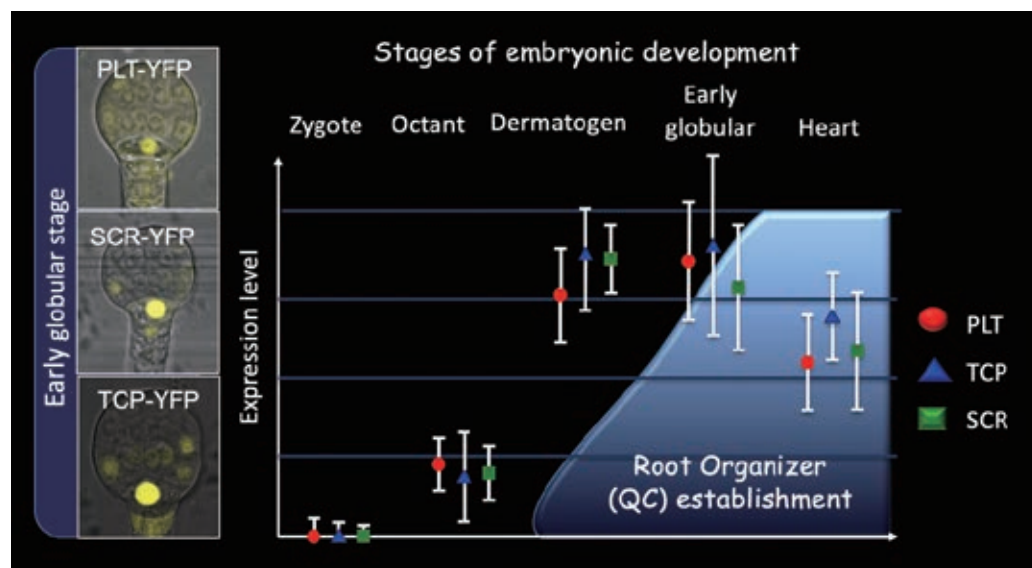
(現) 東京大学大学院理学系研究科 研究員
名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所 特任講師
(2021年4月より)

私たち多細胞生物の体は、様々な特性を持つ細胞の集まりです。動物細胞では個々の細胞の特性は胚発生段階で付与され、その後の発生過程で後戻りできません。一方、植物でも細胞の設計図は胚発生段階で作られますが、動物と比べて遥かに容易に細胞を初期化することができます。そのため、急激な環境変化や外的ストレスに晒されても、細胞の分化情報を一旦リセットした上で初期化と再分化を指示することで、自身の生存に優位に働くように器官形成をコントロールすることができます。つまり、植物は動物とは異なり、多能性幹細胞を再構築できるポテンシャルを生涯にわたって持ち続けていると言えます。本研究では、植物幹細胞を新生しニッチが再構築する仕組みを解明することで、植物発生の基盤原理の理解を目指しています。

植物の全ての器官や組織は、根や茎の先端にある特殊化した微小環境の下で維持されている幹細胞に由来します。ところが、そもそもどのような分子機構で幹細胞を維持する場（ニッチ）が構築され、ライフサイクルのステージが変遷してもなおニッチが崩れずに維持され続けるのかという点については、未だに多くのことがわかっていません。

これまでの研究により、植物の幹細胞維持に働く転写因子群が徐々に明らかになりつつあります。例えば、シロイヌナズナ根端の幹細胞の維持には少なくとも2種類の植物特異的な転写因子

(PLETHORAとSCARECROW) が関与することが知られており、これらの機能欠損変異体では根の形成が著しく阻害されます。私はこれまでに、これらの転写因子がさらに別の転写因子群(TCP)と相互作用することを見出しています。さらに、これらの異所的な発現誘導により幹細胞が新生されることを明らかにしてきました。一方、これらの多重変異体では幹細胞の新生過程に重篤な欠陥が観察されたことから、これら3種類の転写因子から成るタンパク質複合体(PST複合体)は幹細胞ニッチの形成において必要不可欠な働きを持つと考えています。そこで本研究では、このPST複合体の機能を段階的に誘発できるシステムを構築し、これを利用してクロマチン構造と転写ネットワークの解析をゲノムワイドに行うことで、植物体細胞のリプログラミングから幹細胞新生に至るまでの多層的な細胞内イベントの変遷を明らかにしたいと考えています。また、幹細胞新生過程における遺伝子発現プロファイルと植物ホルモンスIGNALとのクロストークについても細胞レベルで詳細な解析を行っていきます。近年の動物の幹細胞研究では、多能性獲得の際にクロマチン構造やその制御因子がダイナミックに変化することが示されています。そこで、本研究によって得られたデータをもとに、多能性獲得に必要な分子機構について動植物間の相違・相似点を分析し、植物特異的な幹細胞特性をもたらす制御基盤に迫りたいと考えています。



内鞘細胞幹細胞性原理の解明



研究代表者

柿本 辰男

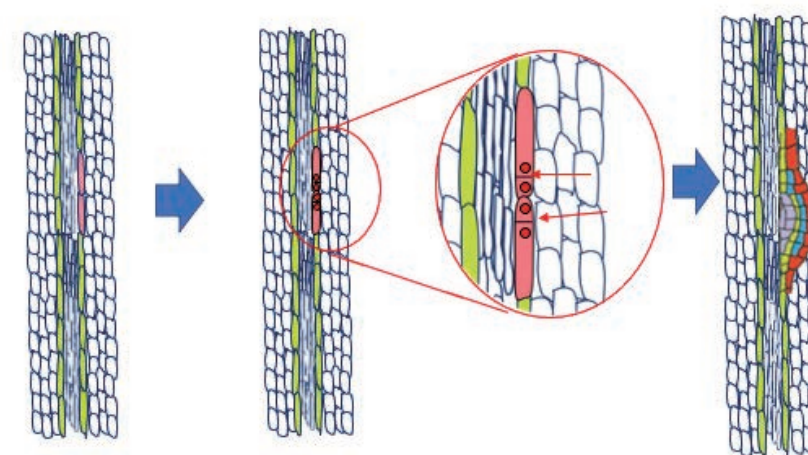
大阪大学大学院理学研究科 教授

種子植物が地上に広く繁栄している理由の一つは、乾燥地でも効率的に水を吸収できる多くの分岐を持つ根系を持っていることです。種子植物では側根という形で新たな根を作ります。根は根端分裂組織で成長しますが、側根原基は後から作られます。側根原基は、内鞘細胞から作られます。内鞘細胞は長期間細胞分裂活性を維持していて、オーキシニンにตอบสนองして速やかに側根原基形成を始めます。シロイヌナズナの根にオーキシニンを与えると内鞘細胞が分裂して多くの側根を形成しますが、内鞘細胞以外は全く分裂しません。どのようにして細胞分裂能が維持され、オーキシニンตอบสนองして分裂するのが、1つ目の面白い点です。また、等価である内鞘細胞群は自発的にオーキシニンピークを作り、オーキシニン勾配に応じて不等分裂をすることで違いを生み出すことが側根形成の最初の段階です。ここでは典型的な自己組織化過程を目の当たりにできるのです。その仕組みはどうなっているのかという点が、2つ目の面白い点です。

1つ目の問題点に関して、内鞘細胞特有の性質が付与される仕組みに取り組んでいます。シロイヌナズナでは、内鞘細胞の中でも道管側に位置する内鞘細胞(XPP)が側根原基を形成します。私たちは、XPPで優先的に発現する転写因子の機能解析を進め、内鞘細胞の性質を与える転写因子群を見出しました。本来は内鞘細胞で発現しているこれらの転写因子を全ての細胞で発現させると、全ての細胞がXPPマーカー遺伝子を発現し、内鞘

細胞以外の細胞もオーキシニンにตอบสนองした細胞分裂を行うようになります。つまり、これらの転写因子は内鞘細胞の性質を付与する能力があります。これらの転写因子の多重変異体を作成すると側根数が減少し、オーキシニンにตอบสนองした細胞分裂も顕著に阻害されます。今後、これらの転写因子の遺伝子操作植物と突然変異体を用いてトランスクリプトーム解析を行い、内鞘細胞の性質を決める実体の理解を目指します。内鞘細胞が細胞分裂を行って側根原基になる過程を理解するためには、内鞘細胞の細胞周期をはっきりさせる必要があります。私たちはタイムラプス観察やDNA合成の可視化によって、内鞘細胞ではオーキシニンはG2/Mを制御することを明らかにしました。今後、オーキシニンがどのようにしてG2/M制御をするのかの糸口をつかみたいと考えています。2つ目の問題点、内鞘細胞からの側根原基への自己組織化を担う細胞間情報伝達の仕組みにも取り組みます。側根原基形成時の細胞間情報伝達分子として、RGFペプチドの機能解析を行っています。

内鞘細胞は細胞分化に至る細胞を供給し続けるわけではありませんので、厳密な意味では動物の組織幹細胞に当たるものとは言えません。内鞘細胞は典型的な幹細胞を配置した組織であるメリステムを生み出す植物特有の発生原理を持っており、本研究は、その原理の理解に貢献すると考えています。



図：内鞘は自発的にオーキシニンピークを作り、これにตอบสนองして内鞘細胞が不等分裂を行うことで側根原基の形成が始まります。内鞘細胞が持つ、この特別な性質を理解しようとしています。

A02 幹細胞性維持

花幹細胞の増殖抑制におけるオーキシンの作用機序



研究代表者

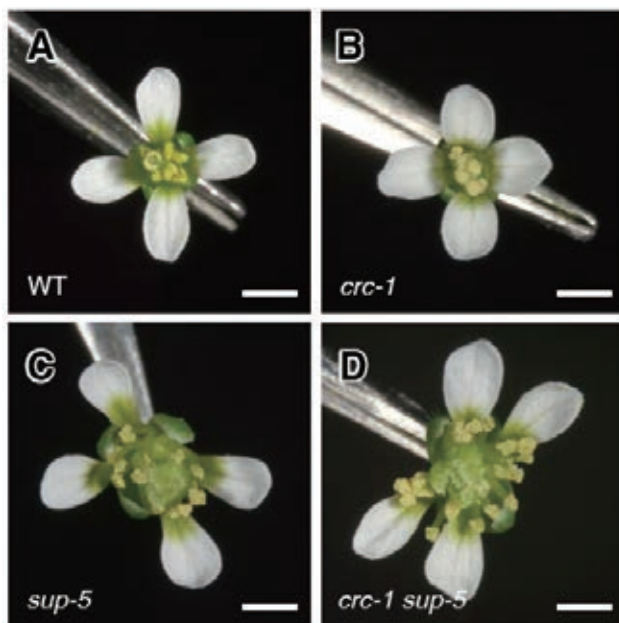
伊藤 寿朗

奈良先端科学技術大学院大学 教授

植物は種子を作るために、花においては幹細胞の働きを止めて、生殖器官を分化させる必要があります。もし、花の幹細胞が増殖を止めないと、花はどんどん大きくなる代わりに本来の雄しべ、雌しべを作ることができないため、次世代の種を残すことが出来なくなります。お米やパンなどの穀物類は植物の種であり、花における幹細胞活性の制御機構を理解することは、食糧生産の視点からも重要な課題です。私たちの研究室では、植物の幹細胞の終結過程にどのような遺伝子がどのようにして機能しているのかを研究しています。1980年代に始まったシロイヌナズナにおける遺伝学的な解析から、花の幹細胞の増殖抑制の機能をもつ SUPERMAN (SUP) と CRABS CLAW (CRC) という2つの転写因子が知られていました。SUPとCRCは、それぞれ花発生初期と中期の花芽において花幹細胞領域を取り囲むように発現することで、細胞非自立的に幹細胞の増殖抑制に働きます。しかし、その下流ターゲット遺伝子はいまだに最近までわかっていませんでした。私たちは、花発生を同調させることにより可能となった発生ステージ特異的なトランスクリプトーム解析により、SUPやCRCのターゲットとして、植物ホルモンであるオーキシンの合成酵素の遺伝子などを同定してきました (Nature Communications 8:1125, 2017; Nature Communications 9: 5290, 2018; EMBO Journal e97499, 2018)。さらに *sup crc* 二重突然変異体は、器官数が単一変異

体よりもさらに増えるという遺伝学的な相互作用も示しました (Frontiers Ecology and Evolution. doi: 10.3389/fevo.2019.00437, 2019)。これらの知見は、オーキシンの花発生時期特異的にダイナミックに変動し、幹細胞の増殖抑制に機能していることを示唆していますが、実際にオーキシンスIGNAL系がどのように作用しているのかは未解明のままです。

そこで、本提案は、遺伝学的、細胞生物学的手法により、花幹細胞終結過程における発生時期特異的なオーキシンの作用機構を解明することを主目的としています。まず、花発生同調系において、野生型、*sup*、*crc* 単一突然変異体、二重突然変異体を作成して、花発生の時間軸に沿ったRNA-seqにより、下流のトランスクリプトームを解析します。さらに、RNA-seq解析において発現変化のある因子のうち、オーキシンの下流の転写制御経路およびオーキシンと拮抗的に作用するサイトカイニンなどに着目し、その遺伝的機能の解析を行います。オーキシンの細胞壁に作用している可能性については、原子間力顕微鏡によるメリステム細胞の物理的な堅さの測定や細胞壁画分の抗体染色などにより解析します。さらに細胞壁を緩ませる酵素遺伝子の異所的な発現操作により、細胞有壁を介した制御機構を検証することで、幹細胞の増殖制御におけるオーキシンの作用機序を解き明かしていきます。



図：野生型 (A), *crc-1* (B), *sup-5* (C), *crc-1 sup-5* 二重突然変異体の花

イネ介在分裂組織における幹細胞の検証と細胞未分化性制御機構の研究



研究代表者

津田 勝利

国立遺伝学研究所 助教

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分裂能が失われることから、幹細胞性を担保するの鍵因子のひとつです。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、細胞未分化性という切り口からイネのIM形成メカニズムを解明すべく研究に取り組んでいます。

イネを材料にすることのメリット

茎は葉の付け根にあたる節とその間の節間の繰り返し構造からなります。茎は維管束植物一般に見られる普遍的な器官ですが、葉や花・根などと比べて発生メカニズムの理解が大きく遅れています。その要因の一つに、節・節間などの茎を構成する組織の明確な区別が多く植物で難しいことが考えられました。一方イネ科植物では葉が茎を包むように発生するため、茎の周囲全体に節構造が発達します。実は本研究を開始してから気がついたのですが、イネではこの特徴が特に明瞭で、イネを材料に茎の発生研究を始めたことがラッキーだったかもしれないと最近思うようになりました。

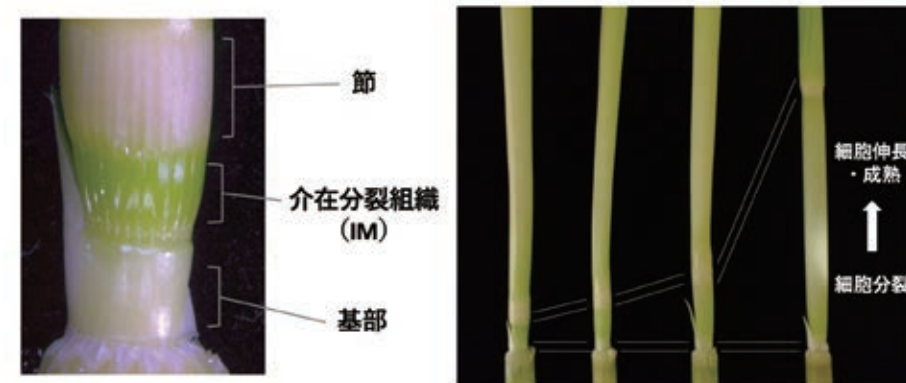
トランスクリプトーム解析で見えてきた茎の発生メカニズム

イネの若い茎は図のように基部・IM・節からなり、これらのパターンが形成されたのちIMだけが伸長していきます。本研究では1cm以下の初期ステージに焦点を当て、トランスクリプトームによる組織の特徴づけをすすめました。上述のように組織の区別が

容易なイネでは、手で輪切りにしていただくだけの簡単なサンプリングでも各組織の特徴を掴むことができました。予想した通り、IMでは細胞分裂に関わる遺伝子群が活発に働いていた一方で、節では細胞分化を促進する因子群が高発現するという興味深い発見がありました。またIMの最も基部では葉や茎の伸長成長に不可欠なことで知られる一群の因子が高発現しており、やはりIMの基部には細胞分裂活性を保つ秘密が隠されているようです。面白いことに、KNOX変異体ではIMが狭まると同時に節領域が広がっており、KNOXが節形成を司る何らかの因子を抑制することでIM形成を促している可能性も見えてきました。今後これらの因子群について分子遺伝学的をすすめ、茎の初期発生メカニズムを明らかにしたいと考えています。

IMの起源を追う

IMは節間を構成する細胞の大部分を供給しますが、そこに幹細胞と呼べるものが存在するかはきちんと検証されていません。その他にも、茎頂で生まれた細胞のうちどれが節・IMになるのか、表皮付近の細胞層の系譜は維持されているのかなど、発生学的に興味深い疑問がたくさんあります。これらの疑問に答えるには、きちんと細胞系譜を追うことが必要です。そこで現在、シロイヌナズナで作られたヒートショックでランダムに細胞を標識する実験系をイネ用に改良し、クローナル解析に向けた準備を進めています。茎だけでなく、さまざまな発生学的解析に使ってもらえるような実験系を目指しています。



イネの茎の構造 (左) と成長の様子 (右)

The RopGEF KARAPPO is Essential for Initiation of Vegetative Reproduction in *Marchantia polymorpha*

Takuma Hiwatashi, Honzhen Goh, Yukiko Yasui, Li Quan Koh, Hideyuki Takami, Masataka Kajikawa, Hiroyuki Kirita, Takehiro Kanazawa, Naoki Minamino, Taisuke Togawa, Mayuko Sato, Mayumi Wakazaki, Katsushi Yamaguchi, Shuji Shigenobu, Hidehiro Fukaki, Tetsuro Mimura, **Kiminori Toyooka**, Shinichiro Sawa, Katsuyuki T. Yamato, Takashi Ueda, Daisuke Urano, Takayuki Kohchi, **Kimitsune Ishizaki** (2019) *Current Biology*, 29, 3525 - 3531

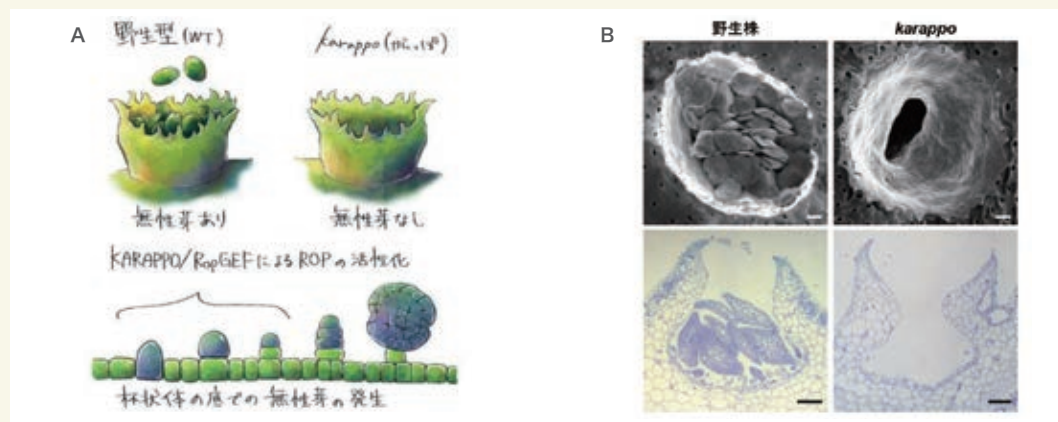
多くの植物は、根や茎や葉といった栄養器官から独立した個体を形成する無性生殖の様式—栄養繁殖で殖えることができます。栄養繁殖でつくられた個体は、親個体と同じ遺伝型をもつ体細胞クローンです。栄養繁殖は、優れた性質をもつ個体を安定的かつ迅速に繁殖させることができるため、農業や園芸分野でも重要な現象として注目されてきました。しかし、いったん分化した栄養器官の細胞からどのように独立した個体をつくる幹細胞が形成されるのか？その仕組みは不明でした。我々は、コケ植物ゼニゴケが栄養繁殖の仕組みをもつことに注目しました。ゼニゴケは、その体の表面に杯状体という器官を形成し、その中に無性芽を大量につくことで栄養繁殖を行います。ゼニゴケの無性芽は、杯状体の底部に位置する表皮細胞が非対称分裂し、無性芽始原幹細胞が作られることからその発生が始まります。

今回、杯状体は形成するが中に無性芽がつかれない *karappo* 変異体2系統を見出しました。豊岡班との領域内共同研究による電子顕微鏡観察により、*karappo* 変異体では杯状体底部に無性芽始原幹細胞が全く形成されないことが明らかとなりました。次に次世代シーケンサー解析により変異体の全ゲノムを解読したところ、2系統とも同じ遺伝子に変異があることが明らかとなり、その遺伝子を *KARAPPO* (*KAR*) と名付けました。変異の入って

いない正常な *KARAPPO* 遺伝子を変異体に導入すると、無性芽の形成が回復したことから、*KARAPPO* 遺伝子は無性始原幹細胞の形成に必要な不可欠な機能をもつことがわかりました。

KARAPPO 遺伝子がコードする *KARAPPO* タンパク質はどのような働きをもつのでしょうか？さらに解析をすすめたところ、*KARAPPO* タンパク質は、細胞の伸長や非対称分裂を制御する低分子量GTPアーゼタンパク質の一種ROPを活性化する働きをもつRopGEFであることが明らかになりました。杯状体底部で活性化型ROPを発現すると *KARAPPO* 変異体の無性芽形成が部分的に回復することも確認できました。以上のことから、*KARAPPO* はROPを活性化することで、杯状体の表皮細胞の非対称分裂を引き起こし、無性芽始原幹細胞を作り出す働きをもつと考えられます。

植物の栄養繁殖メカニズムの研究は、農業・バイオテクノロジーの発展と技術開発に革新的な進展をもたらす可能性を秘めています。今後、*KARAPPO* が制御するROPシグナル伝達経路を明らかにすることで、非対称分裂により植物の体細胞から新たな個体をつくる幹細胞形成の具体的なメカニズムが明らかとなり、栄養繁殖についての基本的な知見が得られると期待されます。



図：A. 無性芽をつくる幹細胞形成を制御する *KARAPPO* の働き
上段：無性芽をつくらない *karappo* 変異体の表現型
下段：無性芽発生の始まりには *KARAPPO* による ROP の活性化を介した非対称分裂の制御が必須と考えられる。
B. *karappo* 変異体の表現型
上段：走査型電子顕微鏡による杯状体像 / 下段：杯状体断面の切片観察像 スケールバー＝100μm

Ethylene Signaling Mediates Host Invasion by Parasitic Plants

Songkui Cui, Tomoya Kubota, Tomoaki Nishiyama, Juliane K. Ishida, Shuji Shigenobu, Tomoko F. Shibata, Atsushi Toyoda, Mitsuyasu Hasebe, Ken Shirasu, **Satoko Yoshida** (2020) *Science Advances*, 6, eabc2385

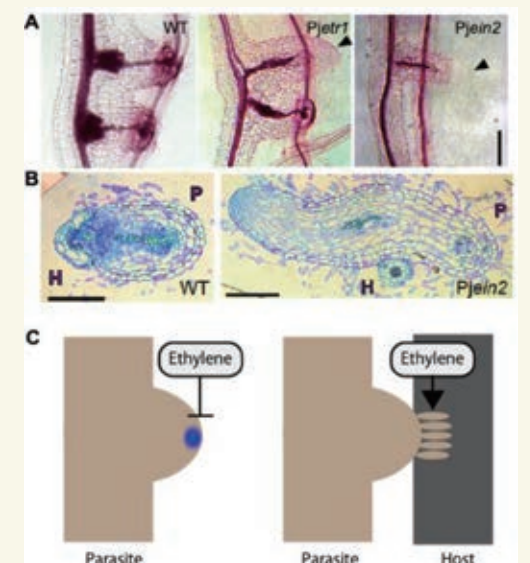
寄生植物は「吸器」と呼ばれる寄生器官をつくり、宿主植物の組織内に侵入して、道管をつなげて栄養を吸収して生育します。ハマウツボ科の寄生植物は、宿主由来の吸器誘導物質に応答して根の一部を変形させて吸器形成を開始し、宿主植物の根に向かって伸長し、宿主根に到達するとその先端の細胞を侵入細胞と呼ばれる特殊な細胞に分化させ、侵入します。しかし、寄生植物がどのようなシグナルによって宿主へ到達したことを認識し、侵入するのは全く分かっていませんでした。

私たちは、ハマウツボ科の寄生植物であるコシオガマ (*Phtheirospermum japonicum*) から、宿主への侵入ができない変異体を2系統単離しました。吸器の先端部には幹細胞のような性質をもつ細胞が存在し、この細胞は分裂を繰り返して吸器を伸長させ、宿主に到達すると侵入細胞に分化して宿主へ侵入します。しかし、単離した変異体は、吸器先端部の細胞の分裂を止めることができず、宿主に到達しても侵入細胞を作れずに通り返してしまいます。また、宿主がいない状態で誘導物質による吸器誘導が起こると、野生型では分裂を止めて吸器の伸長が止まりますが、変異体は分裂を止められないこともわかりました。細胞分裂を続ける変異体の吸器の先端部では、オーキシン応答が活発に起こっており、細胞分裂の維持と局所的なオーキシン応答が関連していることも分かってきました。これらの解析から、この変異体の表現型の原因となっている遺伝子は吸器先端細胞が分裂を続けるか、侵入細胞に分化するかを決定している遺伝子であると考えられました。

そこで、変異体の原因遺伝子の同定を行いました。コシオガマはこれまでゲノムが報告されておらず、まず野生型のゲノム配列の決定からおこないました。野生型のコシオガマゲノムには約30,000個の遺伝子がコードされていることがわかりました。次に、変異体を野生型に戻し交配し、戻し交配2世代目のF2種子から変異体の表現型をもつ個体をあつめ、次世代シーケンサーで解析しました。F2世代に共通して保存されている変異を突き止めることにより、原因遺伝子を同定しました。その結果、2系統の変異体はそれぞれ、植物ホルモンであるエチレンの受容体をコードする *ETHYLENE RESPONSE1* (*ETR1*) とエチレンのシグナル伝達の重要因子である *ETHYLENE INSENSITIVE2* (*EIN2*) の相同遺伝子に変異を持っていることがわかりました。実際に、これらの変異体はエチレンに対して非感受性を示し、エチレンシグナルの阻害剤を野生型に処理すると変異体の表現型を再現できることから、エチレンが吸器の伸

長と宿主への侵入を制御していることが明らかになりました。では、エチレンシグナルはどこから来るのでしょうか？シロイヌナズナのエチレンの生合成酵素の変異体をつかって、コシオガマを感染させると、侵入率が落ちることがわかりました。このことから、寄生植物が宿主に侵入する際に、宿主で生合成されたエチレンが必要であることが示されました。これらの研究から、寄生植物は宿主からのエチレンシグナルを感受して、吸器幹細胞の分裂と分化を制御していることが分かってきました。

しかし、エチレンをかけるだけでは、侵入細胞を分化させることができず、他のシグナルも必要であることがわかっています。また、寄生植物の吸器が宿主へ到達するまで伸長するのは、宿主側から伸長を維持させるシグナルが出ていると考えられます。宿主植物と寄生植物の間には、まだ同定されていないシグナル物質が存在しており、それらが寄生植物の幹細胞の運命を巧みに制御して寄生が成立していると考えられ、これからその仕組みの解明に取り組みたいと思っています。



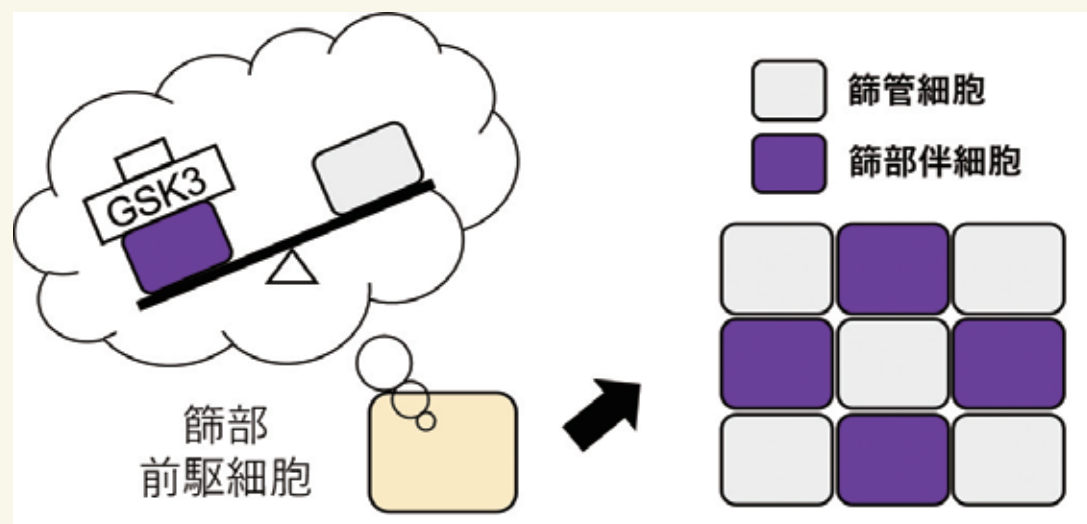
図：コシオガマエチレン変異体の表現型
A. シロイヌナズナに寄生したコシオガマ野生型 (WT) およびエチレン変異体 (*Pjetrl*, *Pjein2*) の表現型。黒線が侵入できなかった変異体の吸器。B. シロイヌナズナに寄生したコシオガマの横断切片。P:コシオガマ、H:シロイヌナズナ。C. 寄生植物の吸器の伸長および侵入におけるエチレンの役割。エチレンは吸器の細胞分裂を止める役割を持ち、宿主侵入の際の侵入細胞の分化には宿主由来のエチレンが必要である。青は分裂が活発な細胞を示す。スケールバー、200 μm。

VISUAL-CC System Uncovers The Role of GSK3 as An Orchestrator of Vascular Cell Type Ratio in Plants

Takayuki Tamaki, Satoyo Oya, Makiko Naito, Yasuko Ozawa, Tomoyuki Furuya, Masato Saito, Mayuko Sato, Mayumi Wakazaki, **Kiminori Toyooka**, Hiroo Fukuda, Ykã Helariutta, **Yuki Kondo** (2020) *Communications Biology*, 3, 184

植物の維管束は、体中にはりめぐらされており栄養分やホルモンを全身に運ぶという重要な働きをもちます。中でも篩部組織は、糖やホルモンの輸送を担う「篩管細胞」とそれらのサポートをおこなう「篩部伴細胞」の主に2種類の機能的細胞から構成されています。これら2種類の細胞はどちらも維管束幹細胞に由来する前駆細胞から分化し、ペアとして機能すると考えられてきましたが、どのようにして細胞の運命が決まるのか、またどのようにして細胞比率のバランスが決められているのかはこれまで分かっていませんでした。これまでに私たちは、“VISUAL”と呼ばれる維管束発生過程を再構成できる分化誘導系を開発し維管束細胞の運命決定について研究を進めてきました。通常のVISUAL法では、道管細胞と篩管細胞を高頻度で誘導できるものの、篩部伴細胞を誘導することはできませんでした。そこで、植物ホルモンなどが含まれる培養条件を色々試すことで、新たに篩部伴細胞を誘導できる条件を探索しました。スクリーニングの結果、通常のVISUAL培地からオーキシシンやbikinin (GSK3阻害剤) の濃度

を減らすことで、篩部伴細胞様の細胞を誘導することに成功しました。この系を“VISUAL-CC”と名付け、篩部伴細胞の形成機構について詳細な解析を進めました。VISUAL-CCを用いた遺伝子発現解析の結果、篩管細胞と篩部伴細胞の形成比率が負の相関関係にあることが明らかとなりました。この比率は培地中のbikininの濃度に依存することが明らかとなり、実際にbikinin濃度を変化させることで、篩部伴細胞の分化率が大きく変わることが分かってきました。bikininはGSK3キナーゼの活性を阻害する阻害剤であることから、植物体内で遺伝子操作によりGSK3活性を変化させたところ、篩部組織におけるそれぞれの細胞比率を操作することに成功しました。これらの結果から、GSK3活性が篩管細胞と篩部伴細胞の運命決定を担うスイッチとして機能することが明らかとなりました。今後は、VISUAL-CCを突破口にして篩部伴細胞の形成機構だけでなく機能についての解析が進展することが期待されます。



図：篩部組織の細胞運命スイッチGSK3
篩部前駆細胞において、篩管細胞と篩部伴細胞の運命はGSK3によって切り替えられ、GSK3活性が高い場合に篩部伴細胞への運命決定が強められる。

Rho of Plants GTPases and Cytoskeletal Elements Control Nuclear Positioning and Asymmetric Cell Division during *Physcomitrella patens* Branching

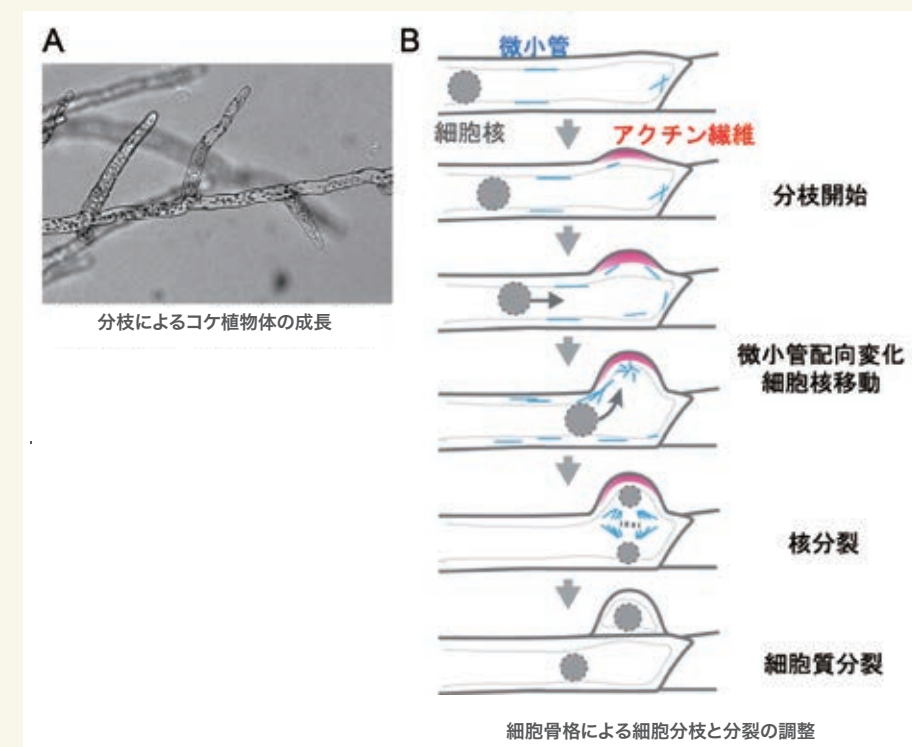
Peishan Yi, **Gohta Goshima** (2020) *Current Biology*, 30, 2860 – 2868

本論文では、ヒメツリガネゴケを用いた研究から、細胞の分枝と分裂の場所が細胞骨格の働きにより調節されること、それにより幹細胞が定まった場所で新生され植物が平面的に成長できるという仕組みを明らかにしました。

生物の体は、細胞が成長（伸長）と分裂を繰り返すことで大きくなっていきます。この過程で、細胞が枝分かれ（分枝）して分裂するのは生物全般に広く見られる現象で、分枝によって効率よく自らの占める空間を広げていくことができます（図A）。ヒメツリガネゴケの原系体では、分枝細胞は幹細胞化し、再び伸長と分裂を繰り返します。枝分かれを作ると細胞の形は非対称になるため、これに合わせて細胞分裂する場所を調整する必要があります。これまで、細胞分枝に合わせた細胞分裂面の調整機構はよくわかっていませんでした。

今回の研究では、顕微鏡ライブ解析から、細胞骨格であるアクチン繊維と微小管の連続的な働きにより、分枝の根元に細胞核が移動して分裂することで、細胞質分裂後に核が分枝部分にも配置されることを見出しました（図B）。その結果、分枝細胞は対称性を取り戻し、幹細胞として分枝と分裂を同様に繰り返すことで、植物体が平面状を広がっていくことがわかりました。

細胞の分枝はコケ植物だけでなく、種子植物や動物の組織、海藻、菌類でも広く見られる現象です。細胞の形を複雑にしながらも細胞核を確実に継承し、組織を大きくしていくという生物の個体成長において、生物種を越えて使われる一般的な仕組みが発見できたのかもしれない。



Suppression of Leaf Blade Development by BLADE-ON-PETIOLE Orthologs is a Common Strategy for Underground Rhizome Growth

Taiyo Toriba, Hiroki Tokunaga, Kazuma Nagasawa, Fanyu Nie, Akiko Yoshida, **Junko Kyozyuka** (2020) *Current Biology*, 30, 509 - 516

植物は、動物とは異なり、成長過程で茎上に幹細胞をもつ芽（腋芽）を増やし、生涯にわたり成長を続けます。腋芽は次々につくられ、伸長し、枝葉を伸ばし、個体が成長します。茎は上に向かって伸びるものでありますが、植物には、タケやイチゴのように上に伸びる茎と横方向に伸びる茎の両方をもつ種類があります。横に伸びる茎が地下（地中）を伸びる場合は地下茎と呼びます。地下茎が伸びた先で地上に出て成長することで個体の生育域は劇的に拡大します。したがって、地下茎性は旺盛に増殖するうえですぐれた成長様式であり、ドクダミやイネ科雑草など、旺盛に繁殖する雑草の多くは地下茎を地中に伸ばして成長します。

私たちは、地下茎を伸ばす野生イネ *Oryza longistaminata* (図1) を用いて、地下茎性について解析しました。まず、同一の個体でありながら地上茎と地下茎では成長相の推移が独立に制御されていることを見出しました。地上茎が生殖成長に転換し花が咲いても地下系は栄養成長期にとどまります。1枚のイネの葉

は基部の葉鞘と先端部分の葉身からなり、その比率は個体の成長段階に応じて変化し、個体が若い時期に分化した葉は葉鞘の割合が高く、個体の齢が進むと葉身の比率が高い葉が分化します。しかし、地下茎ではすべての葉が、地上茎の最初の葉と同様に葉鞘だけから構成されることから、地下茎では最幼若期が継続していると考えました。一般に、植物の幼若性は *miRNA156* が標的である *SPL* 遺伝子の発現を抑制することで保たれますが、地下茎の幼若性も *miR156/SPL* モジュールによりもたらされていました。さらに、*miR156/SPL* の下流で *BLADE ON PETIOLE (BOP)* 遺伝子が地下茎の葉の形態を決定することも明らかにしました。*O. longistaminata* の解析から分かってきた *miR156/SPL/BOP* による地下茎性の制御は、シバやドクダミでも共通でした。このことから、地下茎の進化においてこの遺伝的モジュールが広く採用されたのではないかと考えています。



図1 : *Oryza longistaminata*
左上に地上茎が伸び、右に向かって地下茎が伸びている。

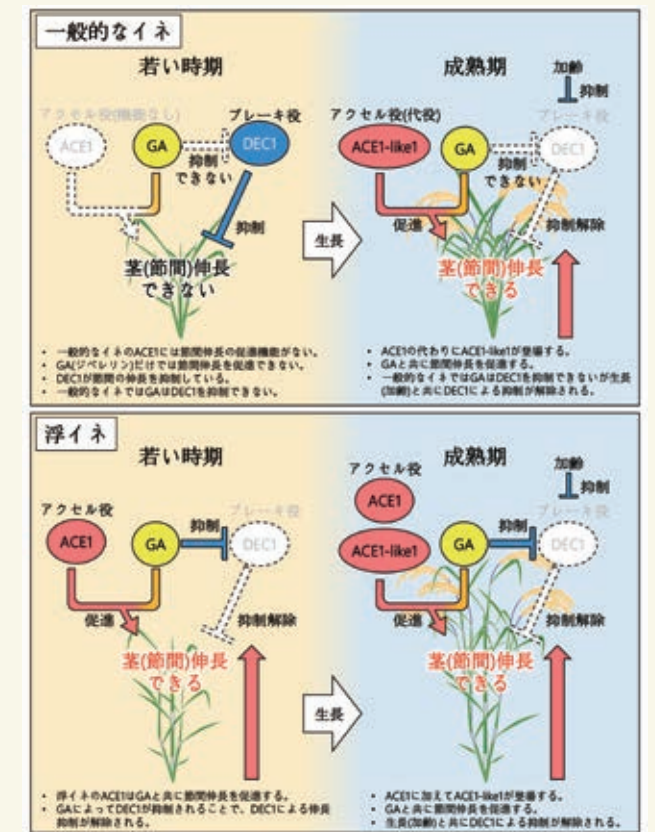
Antagonistic Regulation of The Gibberellic Acid Response During Stem Growth in Rice

Keisuke Nagai, Yoshinao Mori, Shin Ishikawa, Tomoyuki Furuta, Rico Gamuyao, Yoko Niimi, Tokunori Hobo, Moyuri Fukuda, Mikiko Kojima, Yumiko Takebayashi, Atsushi Fukushima, Yasuyo Himuro, Masatomo Kobayashi, Wataru Ackley, Hiroshi Hisano, Kazuhiro Sato, Aya Yoshida, Jianzhong Wu, **Hitoshi Sakakibara**, **Yutaka Sato**, Hiroyuki Tsuji, Takashi Akagi, **Motoyuki Ashikari** (2020) *Nature*, 584, 109 - 114

イネ、コムギ、オオムギ、トウモロコシをはじめとするイネ科作物の茎は節と節間から構成されており、節間の長さが草丈に影響します。植物ホルモンの1つであるジベレリンが、節間の細胞分裂とその後の細胞伸長を促進することで、節間を伸長させることが知られていましたが、分子レベルでの詳細な仕組みについては明らかになっていませんでした。今回、私たちはイネを使って、ジベレリンによる茎伸長のアクセル役である *ACCELERATOR OF INTERNODE ELONGATION1 (ACE1)* 遺伝子とブレーキ役である *DECELERATOR OF INTERNODE ELONGATION1 (DEC1)* 遺伝子の2つの因子を新たに発見しました。

イネ科の茎（節間）伸長では、節間に存在する介在分裂組織と呼ばれる分裂組織が活性化される必要があります。*ACE1*はこの介在分裂組織における細胞分裂を加速させる一方、*DEC1*は細胞分裂を抑制する機能があります。主に東南アジアの洪水多発地帯に生息する浮イネでは若い時期からジベレリン量の増加と *ACE1* タンパク質量の増加が合わさることで節間における細胞分裂が促進されて節間が伸長しますが、一般的なイネでは *ACE1* 遺伝子に突然変異が入っており、正常な *ACE1* タンパク質が作られないために若い時期にいくらジベレリンを加えても節間伸長をしないことが判明しました（図）。しかし、一般的なイネにおいても成熟期になると *ACE1* 遺伝子によく似た遺伝子である *ACE1-LIKE1* 遺伝子の発現量が増加します。これにより植物内で合成されたジベレリンに対する応答性が上昇し、介在分裂組織における細胞分裂が活性化されることにより節間伸長することが明らかとなりました。また、一般的なイネの *DEC1* タンパク質も浮イネの *DEC1* タンパク質も節間における細胞分裂を抑制する機能がありますが、浮イネではジベレリン量の増加によって *DEC1* 遺伝子の発現が減少することで節間における細胞分裂が促進されました（図）。一方、一般的なイネでは、浮イネで観察されたようなジベレリンによる *DEC1* 遺伝子の発現抑制は起こりませんでした。しかし、一般的なイネにおいても葉齢（主茎の葉数）の増加に伴って *DEC1* 遺伝子の発現量が徐々に減少していき、成熟期にはその発現が顕著に減少することから、一般的なイネでは成熟期に *DEC1* による細胞分裂の抑制が解除されることで節間伸長が起

きと考えられました。このように私たちはジベレリンに応答したイネの節間伸長は、相反する機能を持つ *ACE1* と *DEC1* のバランスによって制御されていることを明らかにしました。



Plant Stem Cell Research is Uncovering The Secrets of Longevity and Persistent Growth

Masaaki Umeda, Momoko Ikeuchi, Masaki Ishikawa, Toshiro Ito, Ryuichi Nishihama, Junko Kyojuka, Keiko U. Torii, Akiko Satake, Gohta Goshima, Hitoshi Sakakibara (2021) *Plant Journal* <https://doi.org/10.1111/tbj.15184>

*The Plant Journal*誌から梅田領域代表にPerspectiveの論文執筆依頼がありました。そこで、計画・公募班から9名が共著者として加わり、植物幹細胞研究の背景と現状、および本領域で取り組んでいる課題について解説しました。

幹細胞形成とエピジェネティック制御

陸上植物は通常の発生過程の中で新たな幹細胞を作り出し、側根などの器官を形成します。また傷害を受けると、その近傍の分化した細胞から幹細胞を作り出します。そこで、まず本領域で取り組んでいる、i) 傷害刺激による幹細胞形成の鍵となる遺伝子の発現制御、ii) 幹細胞形成における細胞分裂と細胞の性質変化の関係性、iii) 通常の発生過程における幹細胞形成の分子機構、といった課題について概説しました。また、領域研究の成果として、ヒメツリガネゴケのSTEMIN1が転写抑制型ヒストン修飾であるH3K27me3を除去し、細胞を初期化する例を紹介しました(図1)。さらに、近年のエピゲノム解析が明らかにした幹細胞の特徴として、分化細胞で活性化される遺伝子の発現準備が幹細胞ですでに為されていることなどを解説しました。

幹細胞の増殖制御

植物ホルモンのサイトカイニンとオーキシンは、茎頂の幹細胞ニッチの形成と維持に重要な役割をもっています。サイトカイニンは主に他組織から前駆体として供給されますが、茎頂においては活性型への変換と受容の場が空間的に異なります。そこで、その重要性を解明しようとする本領域の取り組みについて紹介するとともに、サイトカイニンの作用を調節するオーキシンとの相互制御について概説しました。また、花の幹細胞は適当な数の花器官を作った後に幹細胞性を失いますが、花幹細胞の増殖抑制にもサイトカイニンとオーキシンの時空間特異的な制御が重要であることがわかってきたので、その成果についても紹介しました。

幹細胞の非対称分裂とゲノム安定性制御

幹細胞を植物体内で永続的に維持するためには、非対称分裂と幹細胞ゲノムの安定性制御が非常に重要です。そこで、非対称分裂を保证する、i) 分裂前の核配置、ii) 分裂直前の微小管集合

体構築、iii) 分裂期の紡錘体移動といった現象について、主にヒメツリガネゴケを用いて明らかになった本領域の成果を紹介しました。また、個体の寿命とDNA修復・損傷応答遺伝子のコピー数の間には良い相関関係があること、さらに幹細胞死を誘導して幹細胞ゲノムの恒常性を維持する機構について、最新の知見も交えながら解説しました。

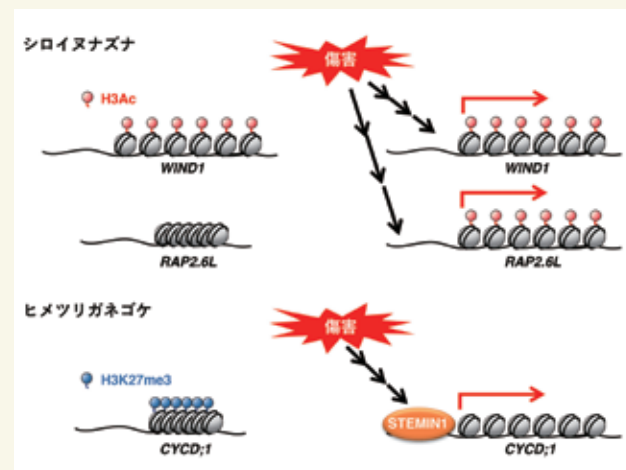


図1：幹細胞形成を制御する遺伝子の発現誘導の仕組み

シロイヌナズナでは、細胞初期化を誘導するWIND1やRAP2.6Lなどの遺伝子領域で、転写活性化に重要なヒストンH3のアセチル化 (H3Ac) が傷害前から起きている、または傷害直後に引き起こされる。一方ヒメツリガネゴケでは、傷害に反応して転写因子STEMIN1が発現し、CYCD;1などの標的遺伝子領域に結合して、転写抑制に働くヒストンH3の27番目のリジンのトリメチル化 (H3K27me3) を取り除く。

第二回 国際シンポジウムの案内

4月26日から28日の3日間、本領域で2年ぶり2回目となる国際シンポジウム「Secrets of stem cells underlying longevity and persistent growth in plants」が開催されます。コロナ禍で対面でのシンポジウム開催は断念し、オンラインとしました。東北大で行われた第一回の時と同じく、植物研究者だけではなく動物研究者も交えて幹細胞について意見交換し、植物の永続的な生存システムを成り立たせる基盤原理の理解を目指します。招待講演者のほとんどが海外在住の研究者になったのはオンラインならではのと言えます。

各セッションはライブで行うことにしました。招待講演は、欧州&アジア・オセアニアの方が中心の午前セッションと、北米&アジア勢の午後セッションがあります。3日目の午後には若手研究者によるショートトークセッションも企画しました。各セッションの後には「Meet the speakers」という時間も設けてあり、活発な議論が期待されます。

多くの方の参加をお待ちしています。参加方法は領域ホームページに掲載予定です。

Scientific Research on Innovative Areas, a MEXT Grant-in-Aid Project for FY2017-2021
Principles of pluripotent stem cells underlying plant vitality

Secrets of stem cells underlying longevity and persistent growth in plants

APRIL 26-28, 2021 (Japan time)
ONLINE

<Organizers>
Gohta GOSHIMA (Nagoya University, Japan)
Masaaki UMEDA (Nara Institute of Science and Technology, Japan)

<Invited speakers>
Tom BECKMAN (Chert University, Belgium)
Christine BEVERIDGE (University of Queensland, Australia)
Junyue CAO (Rutgers University, USA)
Ana I. Caño-Delgado (CRAG CSIC BTAUAB, Spain)
Idan EFFRONI (Tel Aviv University, Israel)
Yukiko GOTOH (University of Tokyo, Japan)
Masaki ISHIKAWA (National Institute for Basic Biology, Japan)
Makiko IWAFUCHI (Cincinnati Children's Hospital Medical Center, USA)
Yuling JIAO (Chinese Academy of Sciences, China)
Tatsuo KAKIMOTO (Osaka University, Japan)
Joo Hyeon LEE (University of Cambridge, UK)
Francesco LICAUSSI (University of Oxford, UK)
Zach LIPPMAN (Cold Spring Harbor Laboratory, USA)
Zhangchi LIU (University of Maryland, USA)
Ana POMBO (Max Delbrück Center for Molecular Medicine, Germany)
Robert SABLONSKI (John Innes Centre, UK)
Michael J. SCANLON (Cornell University, USA)
Tobias SIEBERER (Technical University of Munich, Germany)
Doris WAGNER (University of Pennsylvania, USA)
Jia-Wei WANG (Chinese Academy of Sciences, China)

"Meet the speaker" after each session

For more information and registration
<http://www.plant-stem-cells.jp>

<Contact>
goshima@bio.nagoya-u.ac.jp

2017-2021年度「植物の長寿を支える多能性幹細胞の基盤原理」国際シンポジウム
科学技術領域研究「植物の長寿を支える多能性幹細胞の基盤原理」国際シンポジウム

2020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
3月末 ～4月末	Slackを用いた高校生発表会（日本植物生理学会2020年大会関連）	高校生、指導教員	Covid-19により要旨発表となった高校生物研究発表会について、希望高校対象に約1ヶ月間、Slack上で議論、アドバイスを行った。	オンライン	柿本 辰男
6月5日	科学雑誌ニュートン別冊「ゼロからわかる 細胞と人体」制作協力	一般	「精子や卵子を作る特別な分裂-DNAを正確に分配するには？」（Newton 37巻2号）への制作協力。		五島 剛太
8月4日 ～6日	SSH高校生ラボステイ	高校生	西大和学園高校2年生2名が根の組織再生と細胞分裂の研究を体験。	奈良先端科学技術大学院大学	梅田 正明
8月18日	名古屋大学農学部オープンラボ	高校生、一般	植物ホルモンの生理作用や研究手法などをオンラインで解説。	オンライン	榊原 均 木羽 隆敏
8月29日	「ウィルス、やべえ」	unlock 東京デスロック劇団員	（社）unlock 東京デスロックの科学・教育を題材にした公演を前に、ウィルスに関する基礎知識の講義を行った。	オンライン	岩瀬 哲
9月21日	日本植物学会公開講座「植物はオモシロイ！」	一般	日本植物学会年会の公開講座で、植物の器官再生に関する講演を行い、植物科学の楽しさを広く伝えた。	オンライン	池内 桃子
10月10日	IMS連携大学院説明会	大学生	説明会の中でIMSの各研究室がどのような研究をしているのか、研究者の実際の生活を紹介。	オンライン	養田 亜希子
10月10日	理化学研究所横浜キャンパス一般公開2020オンライン	一般	植物科学研究を支える研究技術（顕微鏡、質量分析）を楽しく学べるクイズ形式のウェブサイトを作成、公開。	オンライン	豊岡 公德 榊原 均
11月4日	西宮東高校講演会	高校生、教員	なるべく高校では習わないような観点から生物学、植物科学のポイントを伝えるように心がけて講演を行った。	西宮市立西宮東高校	柿本 辰男
11月14日	奈良先端大サイエンス塾	小学生および保護者	花のかたち作りにおけるABCモデルとそれに働く遺伝子について、イラストを用いてわかり易く説明。	奈良先端科学技術大学院大学	伊藤 寿朗
12月4日	日本分子生物学会大会SSH生徒研究発表会	高校生、指導教員	高校生の研究発表会での司会と研究成果に対する寸評・アドバイス。ポスター発表での議論、アドバイス。	オンライン	五島 剛太

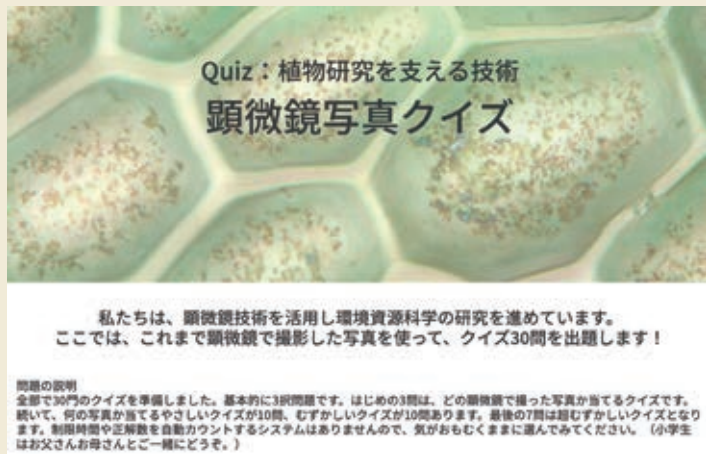
今年度は、アウトリーチ活動もコロナウィルスの大きな影響を受けました。私たちはこれまでアウトリーチ活動を通じて、対面で高校生や一般の方に科学研究の大切さや面白さを伝えるとともに、そこで出会う方々との対話を通じて、科学者と市民とのコミュニケーションの大切さや、自分たちの研究の社会の中での位置づけを学んできました。今年度は多くのアウトリーチイベントが中止となり、また、開催もほとんどがオンラインとなりました。そのような状況の中でも、アウトリーチ活動をしていただいた班員の方々には心から感謝いたします。

感染対策に十分配慮した上で行われた高校生ラボステイ（写真）や、工夫を凝らしたオンラインによる一般公開など、アウトリーチの方法についても新しい可能性を模索する1年だったと思います。オンラインでは対面での臨場感には欠けるものの、距離を問わずにどこからでも参加できるため、より多くの方に情報を発信できることも体験しました。次年度も試行錯誤をしながらのアウトリーチ活動になると思いますが、私たちの研究の大切さ、素晴らしさを少しでも多くの方々に伝えられるよう、取り組んでいくつもりです。

（アウトリーチ担当：榊原 均）



感染対策に配慮しながら行われた高校生ラボステイ（梅田班）



オンラインを活用したクイズ形式の顕微鏡技術紹介（理研・豊岡 公德）

2020年度活動報告

activity report

第4回領域会議

第4回領域会議は2020年3月に開催する予定でしたが、新型コロナウイルス感染拡大のため、7月13日～17日にオンラインで開催しました。令和2年度から新たに領域に加わった公募班員は研究背景と今後の計画について、前年度まで領域に参画してきた計画・公募班員はこれまでの研究成果と今後の予定について発表しました。毎日6名が2時間をかけて発表するという変則的なスタイルでしたが、あまり時間にとらわれず質疑応答に十分時間を割くことができたため、たいへん充実した領域会議となりました。毎日2時間ずつ集中して聞くことができたのも、班員には好評でした。オンライン開催だったため、参加者は延べ120名近くに上りました。若手研究者も気楽に参加することができ、オンラインならではのメリットもありました。



第6回幹細胞研究会

11月19日（木）、20日（金）の2日間、オンラインにて「第6回幹細胞研究会」を開催しました。参加者は領域内外を合わせて約130名でした。動物分野から4名、植物分野から4名の先生方にご講演をいただきました。この場を借りて改めてお礼申し上げます。今回のテーマは「幹細胞の品質管理 ～休眠・老化・死～」とし、品質管理をキーワードに、発癌との関連、細胞競合、RNA代謝、加齢や栄養状態、代謝産物や季節変化の影響など非常に多岐に渡る因子が幹細胞の維持や新生に影響を与える事例を学ぶことができました。



第4回若手の会

2020年度の若手の会は、新型コロナウイルスが猛威を振るう中ギリギリまで対面での開催を検討しましたが叶わず、2020年12月15日（火）～17日（木）にオンラインで開催しました。しかし、若手研究者交流の重要性を身を持って実感されている多くの先生方のサポートを受けて、第4回



若手の会は学生51名を含む総勢102名の参加登録を頂き非常に充実した会となりました。SpatialChatを使ったオンライン交流会では、普段見られない研究室の様子を紹介してもらったり、領域メンバーによる「民間企業vsアカデミア」、「国内vs海外留学」などのテーマに沿った対談の様子を公開するなど、オンライン開催ならではの良さも感じられる会となりました。



グループミーティング開催状況

本新学術領域研究では、研究グループ間の共同研究を活性化させることを目的とし、グループミーティングの開催を随時行っています。今年度は、24件のグループミーティングが開催され、延べ57名の研究代表者・研究分担者が参加しました。また、研究グループ内の若手研究者や大学院生の参加も推奨しており、参加者は延べ129名となりました（1月18日現在）。コロナウィルスの影響で全てオンラインの開催となりました。オンライン会議システムにも慣れてきた7月以降に多く開催されました。コロナ禍においても、班員間の交流が積極的に行われています。



サイトビジット報告

本領域では、領域代表が各班員の研究室を訪問して研究内容について議論するサイトビジットを実施していますが、2020年度は新型コロナ感染拡大のためオンラインで行いました。新しく公募班に加わった班員を中心に8名のグループのサイトビジットを実施しましたが、オンラインなので他の班員も参加することができ、たいへん活発な議論が行われました。2021年度も引き続きサイトビジットを実施する予定です。

2020～2021年度の予定

2021年	3月8日	第6回総括班会議（オンライン、担当：林）
	3月25～26日	第5回領域会議（オンライン、担当：佐竹）
	4月26～28日	第2回国際シンポジウム（オンライン、担当：五島・梅田）
	未定	第3回技術講習会（担当：豊岡）
2022年	未定	第5回若手の会（担当：近藤）
	未定	第7回幹細胞研究会（担当：西浜・柴田）
	3月	Plant Biotechnology誌 特集号（担当：岩瀬・梅田）
	3月（予定）	第6回領域会議（担当：経塚）



前号の編集後記は、コロナウィルスの国内最初の感染拡大期に書きました。当時、オンサイトの学会が次々とキャンセルとなり、今後どのように研究交流ができるのか心配していました。あれから一年。ウェブ会議システムの存在は知っていましたが、まさか自分がこんなに利用するとは想像できませんでした。今や、日々の業務から研究交流まで不可欠な便利ツールです。本新学術領域研究でも、領域会議やグループミーティングで大活躍です。7月以降、このような状況にも関わらず班員のみなさんがウェブ会議システムを利用して積極的に交流していただいたことを嬉しく思うとともに、私自身ももっと交流しなければと気持ちを新たにしました。

ともあれ、なかなかコロナ禍の出口が見えてこないことに、社会の苛立ちが日毎に強まっているように感じます。梅田代表の巻頭言にもありますが、科学と社会との関わりを否応なく考えさせられます。ワクチンの開発は光明と言えるでしょう。こんなに素早くRNAワクチンが実用化されたことには、科学者の末席に座るものとして、嬉しく思います。RNAワクチンは、RNAの安定化やデリバリーなど様々な要素技術が組み合わされて実用化されています。皆さんご存知のmRNAのキャップ構造もRNAワクチンに利用されているとのこと。このキャップ構造、もとはRNAウィルスの末端構造として1975年に古市泰宏先生らにより発見されたものです。RNAウィルスから見つけられたキャップ構造が、RNAウィルスに対するRNAワクチンに必須の要素技術になるなどと、発見当初はだれも想像もしなかっただろうと思います。こんなところにも基礎研究の醍醐味を感じます。