

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

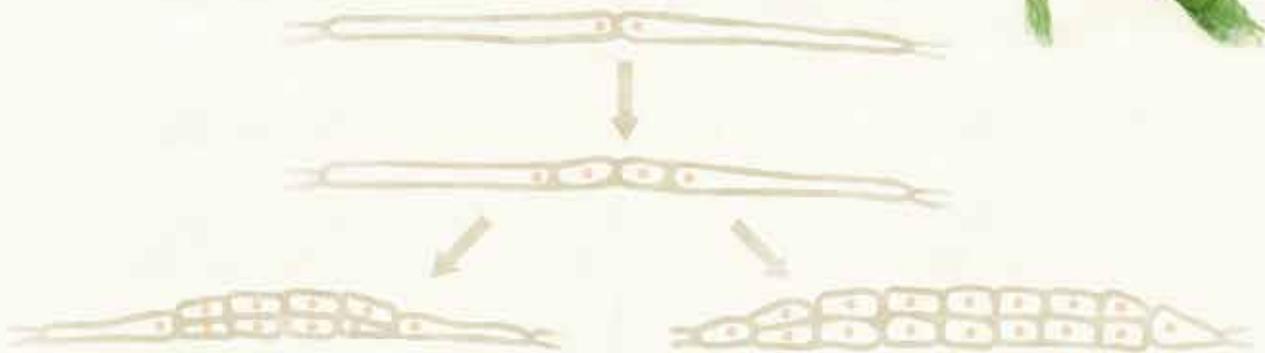
05

2022

March



Aug. 9, 1862  
MORISHIMA, Hiroko



# PSC

NEWS LETTER Plant Stem Cells

2022 March 05



## Contents

● 巻頭言	01
● 計画研究の成果	
A01: 幹細胞の増殖	03
A02: 幹細胞の維持	09
● 公募研究の成果	
A01: 幹細胞の増殖	17
A02: 幹細胞の維持	25
● PSCフロントライン	31
● 2021年度アウトリーチ活動	36
● 2021年度活動報告	37
● 編集後記	裏表紙

## Foreword 巻頭言

2020年のフットプリント（人間が生活や経済活動によって地球環境に与えている負荷の量）が前年比約10%減と予測された、という新聞記事を読みました。コロナで人の移動や消費活動が抑えられたためです。実際に大都市のスモッグが一時解消するなどしたようなので、コロナも悪いことばかりではありません。もちろん私達が不便に思うこともたくさんありましたが、コロナ前にいかに要らない活動が多かったのかを知る良い機会にもなりました。しかし、コロナが下火になると大都市ではイルミネーションが戻り、そこでたくさんの人達が写真を撮り合っています。SDGsはどこへやら・・・と思うのは私だけでしょうか？人間は忘れやすい生き物だと思つづく感じます。

今年の年始に奈良先端大の学長がNatureの面白い記事を紹介しました。その記事によると、人間に幾何学パズルを解かせたり、レゴで作ったものを安定化させるような課題を与えたところ、多くの人が要素を追加することで課題を解決しようとして、取り除く方が簡単で有利であっても、引き算による解決法を考えた人はごく少数だったそうです。つまり、一般的な人間は加算による解決法を見つけようとするのがデフォルトのようです（Nature 592, 258-261, 2021）。このことを考えると、人間が経済活動をなかなか減らせないのも頷けます。いくら地球環境に負荷をかけても、人間の本性が足し算を求めるのなら、「わかっているけど止められない」状態を抜け出せないのでしょうか。忘れやすいからではなく、自然とそうになっているのです。Natureの記事によると、引き算を選ぶためには労力の投資と強い意志が必要のようです。

私達の日々の生活の中でも、似たようなことは知らず知らずのうちに起きていそうです。スケジュールをつい過密にしてしまうのも、それが原因かもしれません。研究をしても、これまで続けてきたプロジェクトを捨てきれず、何とかここまでは・・・と思って続けていることが間々あります。もちろん研究の場合は、様々

なのりしろを作って試行錯誤を繰り返したり、辛抱強く可能性を追求することも大切ですが、その間に引き算をしないといけないことも溜まってきます。それらをいかに上手く処理するかが重要なわけですが、Natureの記事によれば、私達はその作業にかなりのパワーを費やす必要があるということになります。ここからは私見ですが、この作業を一人でするのは限界があるように思います。様々の人達と交わり、その中で引き算に意味があることに気付く人は多いのではないのでしょうか？私自身も助手になりたての頃、他大学のある先生に「君、そんな研究してたらだめになるよ」と言われ、その言葉を反芻しているうちに、その研究はまさに引き算で消さないといけないのだと理解しました。最初は気付きませんでしたでしたが、今ではたいへん貴重な助言を頂いたことに感謝しています。

このように個々の研究者が引き算をする上でも、新学術領域研究のようなグループ研究は非常に大切です。本領域は2021年度で最終年度を迎えましたが、私は領域会議だけでなく、計画・公募班と個別に行ったサイトビジット（後半はオンラインビジットになりましたが）を通じて、各グループに所属する教員、研究員、学生の人達と議論し、多くの刺激を受けました。このような活動が、本領域に関わった多くの人達にとって「足し算」だけでなく「引き算」をする上でも役に立ったのなら、嬉しい限りです。2022年度は取りまとめの年となりますが、私の中ではとりまとめができて本当に終了、という感覚です。最後まで気を引き締めて取り組んで参りますので、引き続きご支援のほど、よろしくお願ひ申し上げます。また、これまで5年間、私達の活動にご協力頂き、心より感謝しております。どうもありがとうございました。今後も、植物の幹細胞研究から生物学分野全般に対して多くの発信が為されることを願ってやみません。

2022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



# A01 計画研究班／幹細胞の増殖

## 植物幹細胞の新生・維持に必要な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ました。

### 【研究成果】

細胞骨格による細胞の分枝と分裂の調整機構

(Yi and Goshima. *Curr Biol.* 2020)

ヒメツリガネゴケの幹細胞を用いた研究で、細胞の極性化と細胞骨格の再編成、非対称分裂の一連の過程を可視化することに成功しました。

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)。しかし、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。

本研究では、ヒメツリガネゴケを使ったライブ解析から、細胞骨格であるアクチン繊維と微小管の連続的な動きにより、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、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、生物種を超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。

### 非対称分裂過程のモデル提唱

(Umeda・Goshima・et al. *Plant J.* 2021)

上記の研究を受け、細胞分裂面を規定する分裂前から分裂中期にかけての機構の全貌が見えてきたので、これを本領域メンバーとの共同執筆総説で論じました。本研究で明らかになった

のは、以下の過程です:(1)分裂期に先立ち、将来の分裂面の近い位置に核が微小管依存的に移動する(図B:パネル3-4)。(2)微小管形成中心が核膜近傍に1つないし2つ形成され、紡錘体微小管生成の拠点となる(図B:パネル4)。(3)紡錘体は微小管形成中心を極とするような方向に形成される(図B:パネル5)。(4)フラグモプラスト、細胞板は紡錘体の位置・配向に合わせて形成され、拡張する(図B:パネル6)。

### 【今後の展望】

見出した一連の非対称分裂過程の各段階を司る重要タンパク質の候補をいくつか見出しています。これらの機能解析を通じて、非対称分裂の仕組みの分子レベルでの理解を目指します。

### 【関連する研究成果論文リスト】

- Goshima, G. (2022). Growth and division mode plasticity by cell density in marine-derived black yeasts. *Genes Cells* in press.
- Molines, A.T., Lemière, J., Gazzola, M., Steinmark, E.I., Edrington, C.H., Hsu, C.-T., Suhling, K., Goshima, G., Holt, L.J., Thery, M., et al. (2022). Physical properties of the cytoplasm modulate the rates of microtubule polymerization and depolymerization. *Dev Cell* in press.
- Shirae-Kurabayashi, M., Edzuka, T., Suzuki, M., and Goshima, G. (2022). Cell tip growth underlies injury response of marine macroalgae *bioRxiv*.
- Gomes Pereira, S., Sousa, A.L., Nabais, C., Paixao, T., Holmes, A.J., Schorb, M., Goshima, G., Tranfield, E.M., Becker, J.D., and Bettencourt-Dias, M. (2021). The 3D architecture and molecular foundations of de novo centriole assembly via bicentrioles. *Curr Biol* 31, 4340-4353 e4347.
- Umeda, M., Ikeuchi, M., Ishikawa, M., Ito, T., Nishihama, R., Kyojuka, J., Torii, K.U., Satake, A., Goshima, G., and Sakakibara, H. (2021). Plant stem cell research is uncovering the secrets of longevity and persistent growth. *Plant J* 106, 326-335.
- Goshima, G. (2021). Microtubule nucleation pathways. *Encyclopedia of Biological Chemistry, 3rd Edition* 5, 547-553.
- Yi, P., and Goshima, G. (2020). Rho of Plants GTPases and Cytoskeletal Elements Control Nuclear Positioning and Asymmetric Cell Division during Physcomitrella patens Branching. *Curr Biol* 30, 2860-2868 e2863.

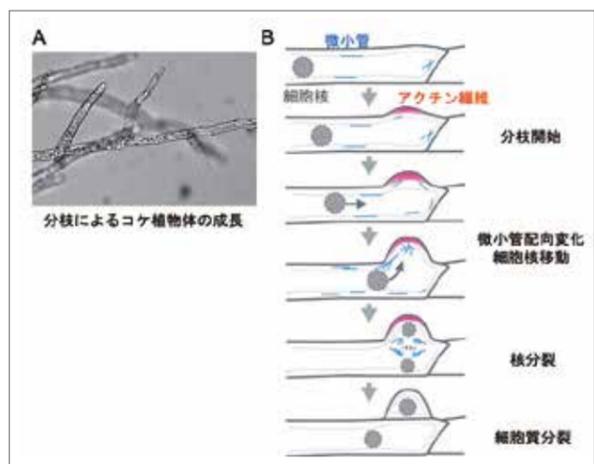


図: 分枝によるコケ植物体の成長

## 植物幹細胞の新生・維持に必要な非対称分裂機構の解明

～イネを用いた幹細胞非対称分裂機構の解明～



研究分担者

佐藤 豊

国立遺伝学研究所 教授

### 【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)を伴う。五島班の分担研究として行われる本研究では、植物細胞がそのライフサイクルにおいて最初に行う非対称分裂、すなわち接合子の非対称分裂をモデルとして研究を進める。本研究では、植物の幹細胞新生に必要な初期胚形成における「極性の確立・分裂・分化と維持」機構の解明を目指し、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。イネを用いた本研究の具体的な目標は、分裂後の細胞の非対称な運命を決定する仕組みの解明である。また、胚極性の確立・維持に関わる多くの突然変異が、発芽後の植物体を構築する幹細胞を失うことから、胚形成における幹細胞の新生機構についても取り組む。

### 【研究成果と今後の展望】

本研究では、接合子非対称分裂に関わることが知られている因子の変異体 $gle4$ に類似した表現型を示す一連の球状型イネ胚形成突然変異の解析を進めている。 $BABY BOOM$ 遺伝子ファミリーの三重突然変異が $gle4$ と類似した表現型を示すことが、父性 $BBM$ が接合子の胚形成開始に機能するという論文に報告されているが、この論文では $BBM$ 遺伝子の胚形成における機能は触れられていない。そこで、 $bbm$ 三重突然変異をゲノム編集により作成し、胚の表現型を解析した。

まず、 $bbm$ 三重突然変異胚には、 $gle4$ に類似した表現型の胚が確かに含まれることを確認した。これに加えて、野生型の胚盤側にシュート様構造が見られるなど他の表現型も見られた。そこで、胚の非対称性確立を分子マーカーで確認したところ、 $bbm$ 三重突然変異胚の頂部一基部軸は正常に形成されていた。一方、胚盤側に見られるシュート様構造では茎頂分裂組織のマーカー遺伝子の発現が見られた。さらに、本来胚盤側で発現する遺伝子マーカーが野生型のシュートが形成される側で発現していたことから、 $bbm$ 三重突然変異体では、胚の背腹軸に異常が生じていると結論づけた。 $bbm$ 三重突然変異胚と野生型胚でのRNA-seqを行った結果、DEGにオーキシン関連遺伝子が含まれていたため、胚の背腹軸形成にオーキシンが関与していると考え、PINの発現を野生型並びに変異胚で調べた。その結果、変異胚では胚の背側に局在するPINの発現が胚全体に広がっていた。現在、オーキシン応答レポーターの発現を野生型と変異胚の初期胚で観察している。

また、五島班と共同で、動物で高度に保存されているキナー

ゼ足場タンパク質Mo25をコードする遺伝子の機能解析を行った。イネ胚形成における器官分化が遅れる突然変異体の解析も進めた。この突然変異の原因遺伝子は、Mo25タンパク質をコードしている。Mo25はヒトや酵母にも保存されており、細胞の極性化、幹細胞維持、細胞分化に関わることが知られている。五島班と共同でイネとヒメツリガネゴケの $mo25$ 変異体の表現型の比較を進めている。

### 【関連する研究論文成果リスト】

- Shenton M, Kobayashi M, Terashima S, Ohyanagi H, Copetti D, Hernández-Hernández T, Zhang J, Ohmido N, Fujita M, Toyoda A, Ikawa H, Fujiyama A, Furuumi H, Miyabayashi T, Kubo T, Kudrna D, Wing R, Yano K, Nonomura KI, Sato Y\*, Kurata N (2020) Evolution and diversity of the wild rice *Oryza officinalis* complex, across continents genome types, and ploidy levels. *Genome Biology and Evolution*, 12 (4), 413-428.
- Shimizu-Sato S, Tsuda K, Nosaka-Takahashi M, Suzuki T, Ono S, Ta KN, Yoshida Y, Nonomura KI, Sato Y\* (2020) Agrobacterium-mediated genetic transformation of wild *Oryza* species using immature embryos. *RICE*, 13, 33.
- Nagai K, Mori Y, Ishikawa S, Furuta T, Gamuyao R, Niimi Y, Hobo T, Fukuda M, Kojima M, Takebayashi Y, Fukushima A, Himuro Y, Kobayashi M, Ackley W, Hisano H, Sato K, Yoshida A, Wu J, Sakakibara H, Sato Y, Tsuji H, Akagi T, Ashikari M (2020) Antagonistic regulation of the gibberellic acid response during stem growth in rice. *Nature* 584, 109-114.
- Tonosaki K, Ono A, Kunisada M, Nishino M, Nagata H, Sakamoto S, Kijima ST, Furuumi H, Nonomura KI, Sato Y, Ohme-Takagi M, Endo M, Comai L, Hatakeyama K, Kawakatsu T, Kinoshita T (2020) Mutation of the imprinted gene *OsEMF2a* induces autonomous endosperm development and delayed cellularization in rice. *The Plant Cell*, 33, 85-103.
- Kajiya-Kanegae H, Ohyanagi H, Ebata T, Tanizawa Y, Onogi A, Sawada Y, Yokota-Hirai M, Wang ZX, Han B, Toyoda A, Fujiyama A, Iwata H, Tsuda K, Suzuki T, Nosaka-Takahashi M, Nonomura KI, Nakamura Y, Kawamoto S, Kurata N, Sato Y\* (2021) *OryzaGenome2.1: Database of Diverse Genotypes in Wild Oryza Species*. *RICE*, 14, 24.
- Sato Y\*, Tsuda K, Yamagata Y, Matsusaka H, Kajiya-Kanegae H, Yoshida Y, Agata A, Ta KN, Shimizu-Sato S, Suzuki T, Nosaka-Takahashi M, Kubo T, Kawamoto S, Nonomura KI, Yasui H, Kumamaru T (2021) Collection, preservation and distribution of *Oryza* genetic resources by the National Bioresource Project RICE (NBPR-RICE). *Breeding Science*, 71, 291-298.
- Takafuji Y, Shimizu-Sato S, Ta KN, Suzuki T, Nosaka-Takahashi M, Oiwa T, Kimura W, Katoh H, Fukai M, Takeda S, Sato Y\*, Hattori T (2021) High-resolution Spatiotemporal Transcriptome Analyses during Cellularization of Rice Endosperm Unveil the Earliest Gene Regulation Critical for Aleurone and Starchy Endosperm Cell Fate Specification. *Journal of Plant Research*, 135, 1061-1081.
- Kusnandar AS, Itoh JI, Sato Y, Honda E, Hibara KI, Kyojuka J, Naramoto S. (2021) *NARROW AND DWARF LEAF 1*, the Orthologue of Arabidopsis ENHANCER OF SHOOT REGENERATION1/DORNROSCHE, Mediates Leaf Development and Maintenance of the Shoot Apical Meristem in *Oryza sativa* L. *Plant Cell Physiol*. doi: 10.1093/pccp/pcab169. PMID: 34865135.
- Kawai T, Shibata K, Akahoshi R, Nishiuchi S, Takahashi H, Nakazono M, Kojima T, Nosaka-Takahashi M, Sato Y, Toyoda A, Lucob-Agustin N, Kano-Nakata M, Suratta R, Niones JM, Chen Y, KHM Siddique, Yamauchi A, Inukai Y (2022) WUSCHEL-related homeobox family genes in rice control lateral root primordium size. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 119(1) e2101846119

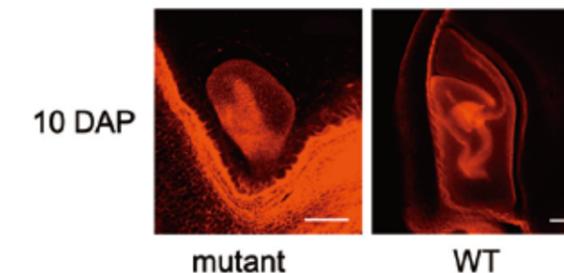


図: イネMo25遺伝子の突然変異胚

# A01 計画研究班／幹細胞の増殖

## 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、一生を通じて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、未分化の状態維持されていると考えられています。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すると言えます。ところがマメ科植物に見られる根粒は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することで生じたこととなります。

根粒菌の細胞内共生器官である根粒の形成は、根粒菌の分泌するシグナル物質の受容とそれに伴う細胞内シグナル伝達によって引き起こされます。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、進化の過程で根粒形成能が獲得された際に流用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、結果として極めてわずかの皮層細胞が分裂を開始します。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重要な現象であると考えました。

そこで、1. NINの下流でどのような遺伝子が働くことによって細胞分裂を誘導できるのか、2. NINの上流でどのような遺伝子が働くことによってNIN遺伝子の転写を制御するのか、という2点に焦点を絞り、マメ科モデル植物ミヤコグサを用いて、NINを中心とした遺伝子制御ネットワーク(GRN)を明らかにしたいと考えました。具体的には、根粒菌の感染によって生じる特徴的な遺伝子発現プロファイルを細胞レベルで検証するために、1細胞RNA-seq解析に取り組みました。また、根粒形成が途中で停止する様々な変異体を用いたバルクRNA-seq解析からGRNを構築することで、NIN遺伝子の転写制御に関わる遺伝子を網羅的に探索しました。

以上の研究により、根粒形成において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、進化の過程で新規形質である根粒形成能を獲得した要因を推定することが、この研究計画の目的です。

### 【研究成果】

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。これを活用することで、根粒形成において皮層細胞の分裂が誘導される際の、根粒菌の感染に特徴的な細胞種における遺伝子発現プロファイルの解析を行っています(図1)。また、皮層における細胞周期の再活性化に関与する遺伝子を同定するために、様々な変異体で細胞周期の進行を検証しました。興味深いことに、根粒菌の感染により段階的に細胞周期が進行することが見えてきました。さらに、共通共生経路がNIN遺伝子の転写を制御する機構が進化のどの段階で獲得されたかを明らかにするために、NIN遺伝子のプロモータ領域におけるシス配列の系統解析をおこないました。その結果、マメ科植物を含む窒素固定クレードの基部で新規に獲得されたシス配列を特定しました。

### 【今後の展望】

1細胞RNA-seq解析などにより根粒幹細胞の新生に重要な遺伝子の同定・機能解析を続けるとともに、根粒菌の感染によるクロマチン構造の変化にも着目するために1細胞ATAC-seq解析を確立し、根粒幹細胞新生の本質に迫りたいと考えています。加えてGRNの解析からNIN遺伝子の発現制御機構が見えてきたことから、NIN遺伝子のプロモータ領域に結合する転写因子の機能を解析することで、NINを中心としたGRN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】

- Soyano T, Liu M, Kawaguchi M, Hayashi M (2021) Leguminous nodule symbiosis involves recruitment of factors contributing to lateral root development. *Curr. Opin. Plant Biol.* 59: 102000.
- Ichihashi Y, Hakoyama T, Iwase A, Shirasu K, Sugimoto K, Hayashi M (2020) Common Mechanisms of Developmental Reprogramming in Plants—Lessons from Regeneration, Symbiosis, and Parasitism. *Front. Plant Sci.* 11: 1084.

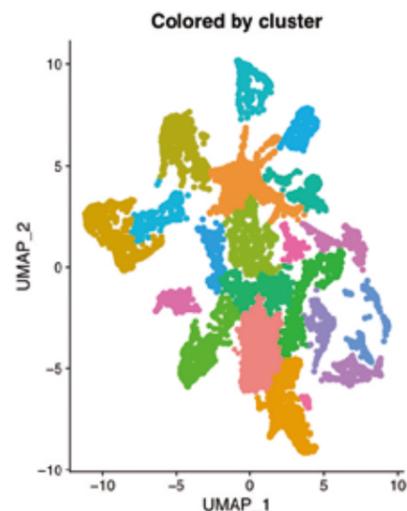


図1: 1細胞RNA-seq解析により明らかとなった根の感染領域における細胞種

## 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、無性的に増殖します。杯状体は葉状体頂端部の背側表皮細胞から分化し、無性芽始原細胞を次々と生み出す幹細胞群として振る舞います。近年の我々の研究から、杯状体の底部と発生初期の無性芽で高く発現し、杯状体の形成に必須の役割をもつR2R3-MYB型転写因子GCAM1が同定されました。本研究では、杯状体底部幹細胞形成の鍵制御因子GCAM1の解析を中心に、ゼニゴケにおける幹細胞新生の制御メカニズムを明らかにします。

### 【研究成果】

本研究ではまず、GCAM1の杯状体底部幹細胞形成における機能を詳細に解析し、さらにGCAM1が被子植物シロイヌナズナのGCAM1オースログであるREGULATOR OF AXILLARY MERISTEMSs(RAXs)の機能欠損変異体における腋芽形成不全の表現型を部分的に相補できることを明らかにしました。この結果は、共通祖先から分岐して4億年以上経過するゼニゴケと被子植物に保存された幹細胞増殖の共通制御機構があることを示唆しています。さらにGCAM1下流の遺伝子制御ネットワークを解析し、GCAM1に直接制御され杯状体底部幹細胞形成に必須の機能をもつ転写因子GROMを同定しました。また、GCAM1の種内パラログであるGC1Lが、葉状体切断片からの幹細胞再生

プロセスで発現が顕著に上昇することを見出し、GC1Lの機能欠損変異体では葉状体節断片からの再生効率が低下することから、GC1Lは葉状体切断片における幹細胞再生を促進する機能を持つことが明らかになりました。GC1LとGCAM1の二重変異体では葉状体再生がほぼ完全に抑制されることから、GC1LとGCAM1は葉状体切断片における幹細胞新生を冗長的に制御すると考えられます。

### 【今後の展望】

梅田班との領域内共同研究からGCAM1の発現制御にはサイトカイニンが関わっていることや、経塚班との領域内共同研究からGCAM1の発現制御に関わる環境因子が明らかになりつつあります。またオーキシンが杯状体や無性芽の形成を抑制することも示唆されています。今後、GCAM1およびGC1L下流の遺伝子制御ネットワークを詳細に解析するとともに、GCAM1およびGC1L上流の発現制御機構を明らかにすることで、植物に共通する幹細胞新生メカニズムの一端を解明できると期待されます。

### 【関連する研究成果論文リスト】

- Kohchi, T., Yamato K.T., Ishizaki, K., Yamaoka, S. and Nishihama, R. (2021) Development and molecular genetics of *Marchantia polymorpha*. *Annual Reviews in Plant Biology* 72: 677-702.
- Kato, H., Yasui, Y. and Ishizaki, K. (2020) Gemma cup and gemma development in *Marchantia polymorpha*. *New Phytologist* 228: 459-465.
- Kato, H., Mutte, S.K., Suzuki, H., Crespo, I., Das, S., Redoeva, T., Fontana, M., Yoshitake, Y., Haniwa, E., van den Berg, W., Lindhoud, S., Ishizaki, K., Hohlbein, J., Borst, J.W., Boer, D.R., Nishihama, R., Kohchi, T. and Weijers, D. (2020) Design principles of a minimal auxin response system. *Nature Plants* 6: 473-482.

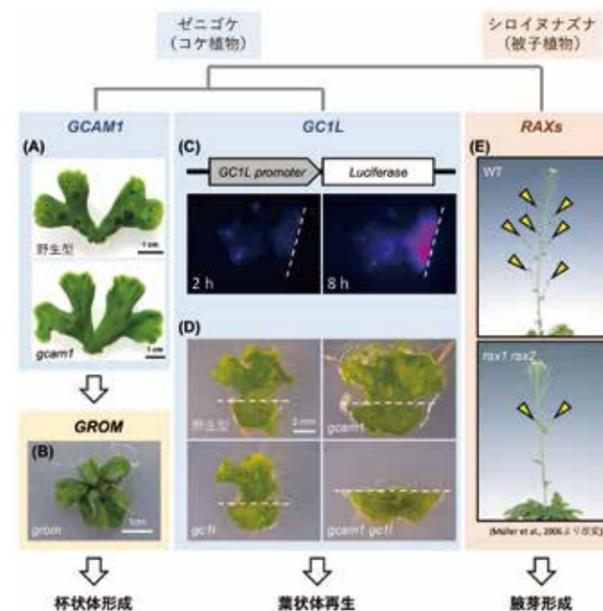


図: (A, B) 野生型で濃い緑色に見える杯状体がGCAM1と下流因子GROMの機能欠損変異体では全く形成されない。(C) GC1Lプロモーター下流でルシフェラーゼを発現するコンストラクトの模式図と、葉状体先端を切除(白線)後のルシフェラーゼ活性。(D) 葉状体の先端を切除(白線)して10日後の再生の様子。gcam1 gc1l二重変異体では再生が著しく抑制される。(E) シロイヌナズナのrax1 rax2変異体では腋芽(矢じり)の形成が抑制される。

# A01 計画研究班／幹細胞の増殖

## 幹細胞増殖を制御す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

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増殖の活性化のシグナルとしてどのように秩序立てられているか、さらにそのシステムが栄養環境に応答した柔軟な成長調節にどのように利用されているのかを、遺伝子レベル、分子レベルで明らかにすることを目的としています。

本領域研究前半で、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、活性型 (tZ) と前駆体 (tZR) の二種類があること、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前駆体tZR由来のものが主であり、LOGがその活性化に重要な役割を果たしていることを明らかにしました (Osugi et al. 2017, Nat Plants)。その知見と、窒素栄養条件に応答したサイトカイニン生合成系遺伝子の発現様式の知見を統合し、植物個体におけるサイトカイニンを介したシステム的な窒素栄養応答機構のモデルを提唱しました (Sakakibara, 2021)。

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進めています。いくつかの候補遺伝子を単離しましたが、まだ最終的な同定には至っていません。評価系を変えるなどの工夫をして引き続き探索を続けています。

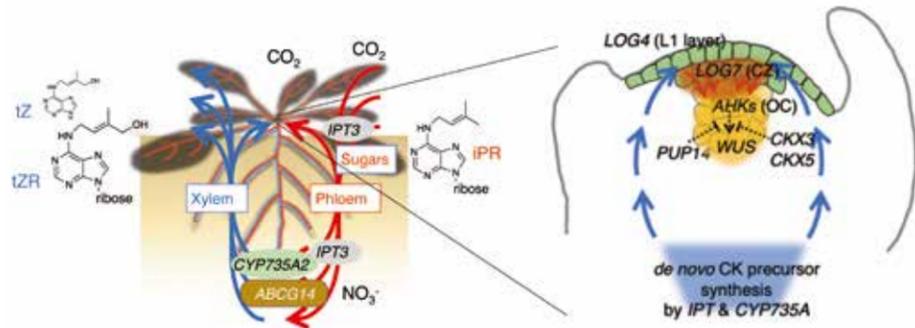
茎頂部でのLOGの発現はL1層に限定されている一方で、受容体AHKはより深部のオーガナイズセンター (OC) で発現しています。両者の空間的分離の重要性や生物学的意義を検証するため、log123457六重変異体にLOG7pro:LOG7, CLV3pro:LOG7,

またはWUSpro:LOG7を導入し、形質転換植物の表現型を観察しました。するとWUSpro:LOG7では葉間期の表現型の回復が起こらなかったことから、サイトカイニンの生産と受容の空間的配置が茎頂幹細胞の活性維持に関係することが示唆されました。現在さらに他の部位特異的なプロモーターを使用した際の表現型観察を行っており、両者の空間的分離の重要性について答えを得る予定です。

非モデル植物の成長調節における、サイトカイニンを介した幹細胞活性維持機構について知るために、野生イネ*Oryza longistaminata*の地下茎伸長とラメット間での情報伝達機構について解析を行いました。その結果、地下茎腋芽幹細胞の活性維持と調節は、栽培イネの地上茎腋芽と同様の機構により制御されていることを明らかにしました (Front Plant Sci, 2021)。また、地下茎を介したラメット間の窒素栄養情報伝達におけるサイトカイニンの役割は小さく、CEPのようなペプチド性のホルモンが深く関与していること、サイトカイニンはラメット内での根から地上部への窒素情報伝達に関わっていることを明らかにしました (Plant Physiol, 2022)。

### 【関連する研究成果論文リスト】

1. Kawai M, Tabata R, Ohashi M, Honda H, Kamiya T, Kojima M, Takebayashi Y, Oishi S, Okamoto S, Hachiya T, Sakakibara H. (2022) Regulation of ammonium acquisition and use in *Oryza longistaminata* ramets under nitrogen source heterogeneity. *Plant Physiol*. In press.
2. Hachiya T, Inaba J, Wakazaki M, Sato M, Toyooka K, Miyagi A, Kawai-Yamada M, Sugiura D, Nakagawa T, Kiba T, Gojon A, Sakakibara H. (2021) Excessive ammonium assimilation by plastidic glutamine synthetase causes ammonium toxicity in *Arabidopsis thaliana*. *Nat Commun*. 12: 4944.
3. Shibusaki K, Takebayashi A, Makita N, Kojima M, Takebayashi Y, Kawai M, Hachiya T, Sakakibara H. (2021) Nitrogen nutrition promotes rhizome bud outgrowth via regulation of cytokinin biosynthesis genes and an *Oryza longistaminata* ortholog of FINE CULM 1. *Front Plant Sci*. 12: 670101.
4. Sakakibara H. (2021) Cytokinin biosynthesis and transport for systemic nitrogen signaling. *Plant J*. 105: 421-430.
5. Umeda M, Ikeuchi M, Ishikawa M, Ito T, Nishihama R, Kyozuka J, Torii KU, Satake A, Goshima G, Sakakibara H. (2021) Plant stem cell research is uncovering the secrets of longevity and persistent growth. *Plant J*. 106: 326-335.



図：サイトカイニンを介したシステム的な窒素栄養応答機構  
左パネルは個体レベルでのサイトカイニンの生合成・輸送制御のモデルを、右パネルは茎頂部分でのサイトカイニンの移動と幹細胞への作用のモデルを示す。

## 幹細胞新生のタイミングを制御する分子機構の解明 ～未知の低分子シグナルが関与する制御系～



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】

イネの*plastochron1 (pla1)* 変異体やシロイヌナズナの*kluh (klu)* 変異体は、葉間期が短い (一定期間に着ける葉の数が多い) 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クロロムP450酵素をコードしていることが明らかにされています。これらの酵素の植物体内での酵素機能は不明ですが、既知の植物ホルモンの生合成や代謝に関わるのではなく、未知の低分子シグナル (CYP78シグナル) の生合成または代謝に関わる可能性が高いと推定されています。私たちはCYP78シグナルの同定を目指して研究を進めてきました。また、CYP78シグナルと既知の植物ホルモンとの関係についても解析を行いました。

一方、カロテノイドに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きました。

### 【研究成果】

CYP78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。また、シロイヌナズナの*cyp78a* 二重変異体の茎頂部を材料に、同様のトランスクリプトーム解析を行いました。CYP78シグナルを同定するため、同シグナルに反応する遺伝子群の中から発現量の差の大きな遺伝子を選抜し、それらをマーカー遺伝子として用いることにしました。これらのマーカー遺伝子の発現量を野生型における発現量に回復させる物質を、ヒメツリガネゴケのCYP78A過剰発現体の原糸体の抽出画分から探索しました。その結果、そのような画分を再現性良く得ることができました。コントロールとして、ヒメツリガネゴケの*cyp78a* 二重変異体から得られた同じ抽出画分を投与した場合には、マーカー遺伝子の発現量を野生型における発現量に回復させないことが確認されました。

ヒメツリガネゴケの*cyp78a* 二重変異体およびCYP78A過剰発現体の解析から、CYP78シグナルはオーキシンの分布を変化させることが示唆されました。ヒメツリガネゴケ原糸体では、オーキシンの投与により側枝の枝分かれが抑制されることが報告されています。*cyp78a* 二重変異体の原糸体においてはオーキシンの内生量が高まっており、幹細胞新生を伴う側枝の枝分かれが抑制されていた (図)。これらの結果は、オーキシン信号伝達の低下が幹細胞新生

に重要である、という仮説と一致します。一方、*cyp78a* 二重変異体においては、茎葉体が正常に分化せず、カルス状の細胞塊が形成されました (図)。この表現型はサイトカイニンを投与した場合に観察されることが知られており、*cyp78a* 二重変異体を培養した培地中では野生型を培養した場合と比較して、サイトカイニン濃度が高まっていることが明らかになりました。以上の結果から、CYP78シグナルはオーキシンやサイトカイニンを介して幹細胞の新生や分化に影響を与えることが示唆されました。

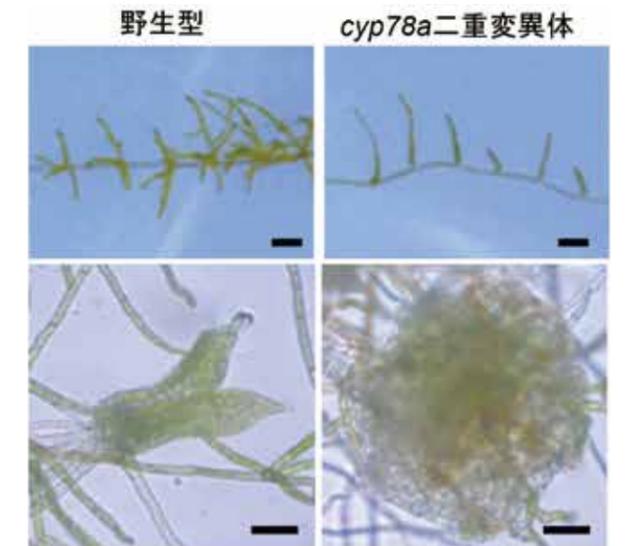
また、本研究ではストリゴラクトンの生合成に関する研究を行い、複数の新たな生合成酵素の機能解明に成功しました。

### 【今後の展望】

CYP78シグナルの化学的実体は長らく不明です。本研究で得られた結果をもとに、近い将来CYP78シグナルの実体が解明され、幹細胞新生のタイミングを制御する分子機構の理解が進展することが期待されます。

### 【関連する研究成果論文リスト】

1. Mashiguchi, K., Seto, Y., Yamaguchi, S. (2021) Strigolactone biosynthesis, transport and perception. *Plant J*, 105: 335-350.
2. Yoda, A., Mori, N., Akiyama, K., Kikuchi, M., Xie, X., Miura, K., Yoneyama, K., Sato-Izawa, K., Yamaguchi, S., Yoneyama, K., Nelson, D.C., Nomura, T. (2021) Strigolactone biosynthesis catalyzed by cytochrome P450 and sulfoltransferase in sorghum. *New Phytol.*, 232: 1999-2010.



図：CYP78シグナルはヒメツリガネゴケ原糸体の枝分かれ (上)、茎葉体の形態形成 (下) に影響する。

## 植物幹細胞の多能性を維持するメカニズムの解明



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】

花序とは花の集合です。花序が形成される過程では、幹細胞集団が徐々に形成され枝として成長します。花序形成の初期に形成される枝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、ある段階移行に形成される幹細胞集団では多能性が維持されず、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、分枝形成から花芽形成への切り替えのタイミング制御機構を明らかにすることを目的としています。

これまでに、イネTAWAWA1 (TAW1) 遺伝子が分枝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こと、すなわち、イネTAW1は幹細胞の多能性を維持する遺伝子であるということを見出しました。

### 【研究成果】

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。コケ植物の多能性幹細胞（頂端幹細胞）は単一の細胞であり、幹細胞が非対称分裂したのちに、一方の娘細胞は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。そこで、コケ植物の幹細胞はTAW1による幹細胞の多能性制御研究に適しているのではないかと考えました。まず、苔類ゼニゴケのTAW1 (LATERALORGAN SUPPRESSION1 (LOS1))と命名)を解析したところ、LOS1は副鱗片という痕跡的な葉状器官で発現し、LOS1の機能を失うと副鱗片が過剰に成長し、さらに頂端幹細胞が維持されなくなることを見出しました。副鱗片の表現型は、葉の形が原始的な形に先祖返りしたものだとして解釈しています。また、TAW1/LOS1が葉の発生の制御を介して間接的に多能性幹細胞の維持に関わるということが分かってきました。

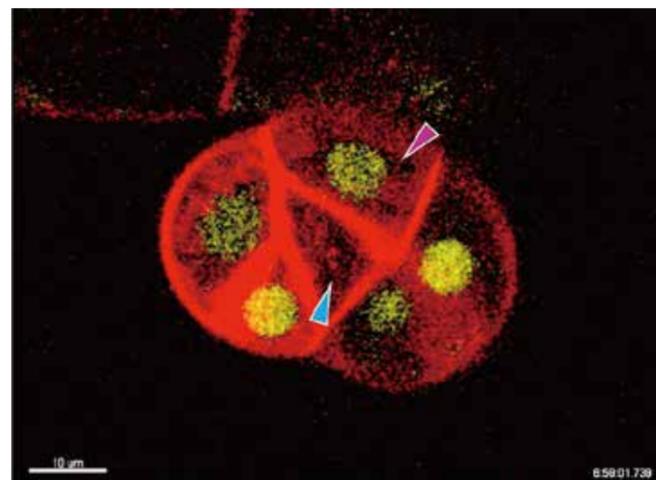
次に、蘚類のヒメツリガネゴケを用いてTAW1が頂端幹細胞の維持に果たす役割をさらに解析しました。ヒメツリガネゴケは、原糸体と呼ばれる単細胞列からなる繊維状の組織を形成し、原糸体一部の枝分かれは茎と葉をもつ茎葉体へと成長します。茎葉体の頂端幹細胞は非対称分裂を行います。PpTAWは頂端幹細胞が非対称分裂を行った後に幹細胞ではない細胞で発現を開始すること、その結果、茎葉体の幹細胞以外のほぼすべての細胞に存在することを明らかにしました。また、PpTAWは細胞自律的に器官の分化運命を決定し、細胞非自律的な経路を介して頂端幹細胞の機能を維持することが分かりました。PpTAWは微小管や細胞壁に関わる遺伝子の発現を促進し、その一方で、サイトカニン応答や幹細胞形成にかかわる転写因子遺伝子の発現を抑制することを見出しました。

### 【今後の展望】

TAW1は陸上植物に共通する、分化と未分化のバランスをとる遺伝子であることが明らかになってきました。その機能を解明することにより頂端幹細胞の維持に関する新たな知見が得られ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, Jones VAS, Trozzi N, Sato M, Toyooka K, Shimamura M, Ishida S, Nishitani K, Ishizaki K, Nishihama R, Kohchi T, Dolan L, **Kyozyuka J.** (2019) A conserved regulatory mechanism mediates the convergent evolution of plant shoot lateral organs. *PLoS Biol.* 17(12): e3000560.
- Kusnandar AS, Itoh JI, Sato Y, Honda E, Hibara KI, **Kyozyuka J,** Naramoto S. (2021) *NARROW AND DWARF LEAF 1*, the Orthologue of Arabidopsis ENHANCER OF SHOOT REGENERATION1/DORNROESCHEN, Mediates Leaf Development and Maintenance of the Shoot Apical Meristem in *Oryza sativa* L. *Plant Cell Physiol.* doi: 10.1093/pcp/pcab169. PMID: 34865135.
- Naramoto S, Hata Y, Fujita T, **Kyozyuka J.** (2021) The bryophytes *Physcomitrium patens* and *Marchantia polymorpha* as model systems for studying evolutionary cell and developmental biology in plants. *Plant Cell.* doi: 10.1093/plcell/koab218. Epub ahead of print. PMID: 34459922.



図：分裂直後の幹細胞。PpTAW1タンパク質 (YFPで黄色く可視化) は幹細胞となった娘細胞 (水色) には局在せず、分化細胞となる娘細胞 (ピンク) に出現する。

## 植物幹細胞の多能性を維持するメカニズムの解明

～最先端顕微鏡技術を駆使して幹細胞系譜を捉える～



研究分担者

豊岡 公德

理化学研究所環境資源科学研究センター 上級技師

### 【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】

根端と茎頂における細胞内小器官の微細構造と分布を詳細に明らかにするために、広域電顕撮影法と連続切片走査電顕法の技術検討を行い、シロイヌナズナの根端および茎頂、加えてイネの茎頂について広域電顕像および連続切片像を取得しました (図左)。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新しいウェブサーバーに公開しました (<https://www.yokohama.riken.jp/em-atlas/>)。さらに、植物幹細胞解析センターに導入した共焦点レーザー顕微鏡と連続切片自動撮像システムを搭載した電界放出型走査電顕 (FE-SEM) を組み合わせ、3次元光-電子相関顕微鏡法 (3D-CLEM) の開発を進めました。蛍光タンパク質標識した細胞小器官を持つシロイヌナズナの形質転換体を用いて、蛍光を放つ細胞小器官を電顕レベルで3D再構築することに成功しました (図右)。また、動物研究においてオスミウムとエポキシ樹脂に耐性を持つと報告のあるいくつかの蛍光タンパク質を、細胞内小器官および幹細胞に特徴的なマーカー遺伝子と融合

し、シロイヌナズナ形質転換体を作成してCLEM解析を進めています。イメージング解析技術を活かし、領域内共同研究を9件遂行し、領域班員と5報の共著論文を発表しました。

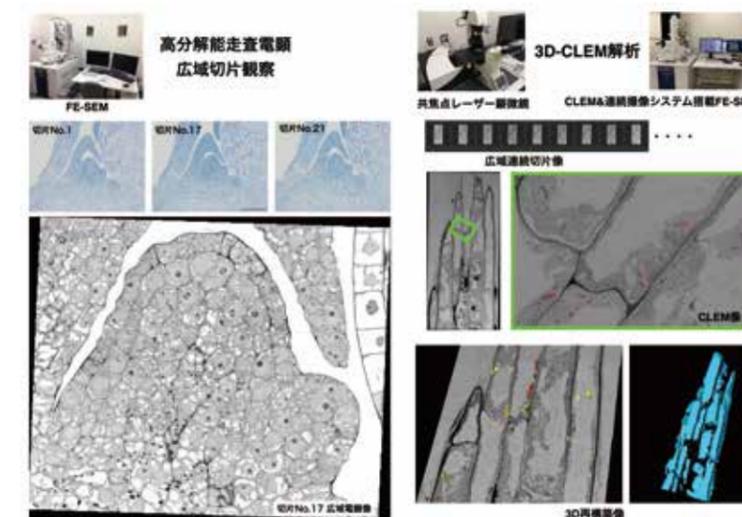
### 【今後の展望】

オスミウムとエポキシ樹脂に耐性を持つ蛍光タンパク質を用いて、植物試料のCLEM解析を進め、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えます。そして、シロイヌナズナやイネなどのモデル植物の根端および茎頂の幹細胞と幹細胞系譜を含む広域3次元電顕アトラスのウェブ公開を行う予定です。また、植物細胞・組織に適した固定・樹脂包埋に耐性を持つ蛍光タンパク質を探し、植物CLEM試料調製法の開発を進め、植物科学研究に貢献します。

### 【関連する研究成果論文リスト】

- Masumoto N, Suzuki Y, Cui S, Wakazaki M, Sato M, Kumaishi K, Shibata A, Furuta KM, Ichihashi Y, Shirasu K, **Toyooka K,** Sato Y, Yoshida S. (2021) *Plant Physiol.* 185, 1429-1442.
- Hachiya T, Inaba J, Wakazaki M, Sato M, **Toyooka K,** Miyagi A, Kawai-Yamada M, Sugiura D, Nakagawa T, Kiba T, Gojon A, Sakakibara H. (2021) *Nature Commun.* 12, 1-10.
- Ikeuchi M, Iwase A, Ito T, Tanaka H, Favero DS, Kawamura A, Sakamoto S, Wakazaki M, Tameshige T, Fujii H, Hashimoto N, Suzuki T, Hotta K, **Toyooka K,** Mitsuda N, Sugimoto K. (2021) *Plant Physiology* DOI: 10.1093/plphys/kiab510.
- Tamaki T, Oya S, Naito M, Ozawa Y, Furuya T, Saito M, Sato M, Wakazaki M, **Toyooka K,** Fukuda H, Helariutta Y, Kondo Y. (2020) VISUAL-CC system uncovers the role of GSK3 as an orchestrator of vascular cell type ratio in plants. *Commun Biol.* 3: 184.
- Watanabe S, Takahashi N, Kanno Y, Suzuki H, Aoi Y, Takeda-Kamiya N, **Toyooka K,** Kasahara H, Hayashi K, Umeda M, Seo M (2020) The Arabidopsis NRT1/PTR FAMILY Protein NPF7.3/NRT1.5 is an Indole-3-butyric Acid Transporter Involved in Root Gravitropism. *PNAS.* 117: 5914.
- Toyooka K.** (2020) MirrorCLEM: A Seamless System for Correlative Light and Electron Microscopy. *The HITACHI Scientific Instrument News* 15:1-7.
- 豊岡公德, 若崎真由美, 宮彩子, 佐藤蘭子 (2020) 切片SEM観察法の植物試料への応用 *顕微鏡* 55: 7-12.
- 豊岡公德, 若崎真由美, 武田紀子, 佐藤蘭子 (2020) 走査電子顕微鏡を用いた植物組織・細胞の新しい捉え方 *Plant Morphology* 32: 3-9

ほか14報



図：(左) FE-SEMにより撮像したイネ茎頂(発芽3週目)の広域切片電顕像。連続切片21枚目の中心部分の茎頂を13,000倍で254枚撮影し、つなぎ合わせたメガピクセル像。(右) 共焦点レーザー顕微鏡とCLEM&連続撮像システム搭載FE-SEMにより撮像した、シロイヌナズナ根端における蛍光タンパク質標識した細胞小器官の3D再構築像。

## 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

～植物の一過性気孔系譜幹細胞の維持と分化～

### 【研究の背景・目的】

植物表皮の気孔をつくる一過的な幹細胞としての性質を持つメリステモイド細胞に着目し、それら幹細胞の一細胞レベルでの観察と操作が可能な系を確立・駆使し、そのゲノム動態や分裂能を比較解析することにより、植物の多能性幹細胞の本質に迫ることを目的とします。

### 【研究成果】

研究グループは、気孔系譜のメリステモイド細胞状態の維持から気孔への分化へと切り替える司令転写因子MUTEに着目してきました。気孔は一对の孔辺細胞が穴を囲んだ形状をしています。これまでに、我々のグループは、気孔の前駆細胞（孔辺母細胞）において対称分裂が厳密に一回だけ起こる仕組みを明らかにし、それがMUTEによる制御メカニズムによることを示しました(Han et al. 2018 DEVELOPMENTAL CELL)。

気孔系譜のメリステモイド細胞は、非対称分裂(幹細胞的な分裂)を数回繰り返した後にMUTEが発現し、細胞分裂様式が対称分裂に切り替わります。それはどのような仕組みによるものなのか。果たして、非対称分裂と対称分裂では細胞周期に根源的な違いがあるのか。今回、研究グループは、多色細胞周期マーカーを用いたライブイメージングとゲノムワイドなMUTE結合部位解析を組み合わせて、MUTEが非対称分裂→対称分裂に切り替えるメカニズムを解明しました。

まず、多色細胞周期マーカー PlaCCIを用いた芽生え表皮のライブイメージングから、非対称分裂の速度は対称分裂の速度よりも速いことがわかりました。そのことから、MUTEによって細胞周期のブレーキがかかると予測し、MUTEにより強く発現誘導される細胞周期抑制因子を探索し、SMR4を発見しました。SMR4を欠損する変異体では、非対称分裂が素早く起こり、逆に、初期メリステモイド細胞においてSMR4を過剰に発現させた形質転換体では、非対称分裂が対称分裂と同じくらい遅延しました。どちらのケースでも、非対称分裂のG1周期が大きく影響を受けており、また、対称分裂には差がありませんでした。

ではどうやって、SMR4は非対称分裂にブレーキをかけるのでしょうか。SMR4は気孔系譜の非対称分裂のG1周期を動かすサイクリンCYCD3;1と強く相互作用し抑制する一方、MUTEによって誘導され対称分裂のG1周期を動かすサイクリンCYCD5;1とは相互作用しないことがわかりました。このことから、気孔系譜の幹細胞から分化状態への切り替え時に、MUTEがSMR4を介して非対称分裂を遅延させ、分化状態での対称分裂へと誘う仕組みが解りました。さらに、SMR4を過剰発現することにより、



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

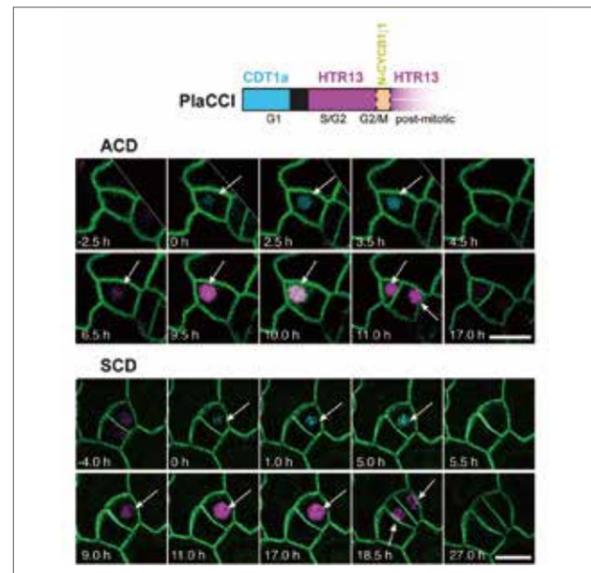
非対称分裂の細胞周期が遅延したメリステモイド細胞は、肥大して、表皮細胞のようなジグソーパズル型の形状になりつつも対称分裂を遂行し、孔辺細胞と表皮細胞のハイブリッドのような気孔を作ることも解りました。これは、細胞周期と細胞分化にズレが生ずることによって、細胞の発生運命が影響を受けてしまうことを示唆しています。

### 【今後の展望】

多色細胞周期マーカー PlaCCIによって、気孔系譜の転写因子による細胞発生運命の決定と細胞周期との相互作用が明らかになってきました。G1, G2などの特定の細胞周期においてゲノム動態がどう変化し、SPCH,MUTE,FAMAという司令転写因子が幹細胞の維持と分化を携わるのか。また、どうして細胞周期が遅れた気孔幹細胞が表皮細胞様になってしまうのか、そのメカニズム解明は今後の課題です。

### 【関連する研究成果論文リスト】

- Han, S. K., Herrmann, A., Yang, J., Iwasaki, R., Sakamoto, T., Desvoyes, B., Kimura, S., Gutierrez, C., Kim, E. D. and \*Torii, K. U. (2022). Deceleration of the cell cycle underpins a switch from proliferative to terminal divisions in plant stomatal lineage. *Developmental Cell*, in press
- \*Torii, K. U. (2021). Stomatal development in the context of epidermal tissues. *Ann Bot* 128, 137-148.
- Zuch, D. T., Doyle, S. M., Majda, M., Smith, R. S., \*Robert, S. and \*Torii, K. U. (2021). Cell biology of the leaf epidermis: Fate specification, morphogenesis and coordination. *Plant Cell*.
- Han, S. K. and \*Torii, K. U. (2019). Linking cell cycle to stomatal differentiation. *Curr Opin Plant Biol* 51, 66-73.
- Han, S. K., Qi, X., Sugihara, K., Dang, J. H., Endo, T. A., Miller, K. L., Kim, E. D., Miura, T. and \*Torii, K. U. (2018). MUTE Directly Orchestrates Cell-State Switch and the Single Symmetric Division to Create Stomata. *Developmental Cell* 45, 303-315 e305.



図：気孔系譜の非対称分裂 (ACD) と対称分裂 (SCD) の細胞周期速度

## 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・節部細胞への分化を短時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BES/BZR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)。更に遺伝学解析を進め、BES/BZR転写因子間の競合関係が維管束幹細胞の活性の安定化に重要であることを明らかにしました (Ref. 2)。詳しくはPSC Front Lineで解説しておりますので、そちらをご覧ください。また、BES/BZR転写因子は分化抑制因子TDIFと分化促進因子ブラスノステロイド (BR) の下流で機能することも知られています。VISUALを用いた定量的解析から、細胞外シグナルであるTDIFとBRについても競合的な関係性があることが示唆されました (Ref. 3)。このように、維管束幹細胞の維持においては、シグナル伝達が様々な段階で競合することによりロバストに制御されていることがわかりました (図)。

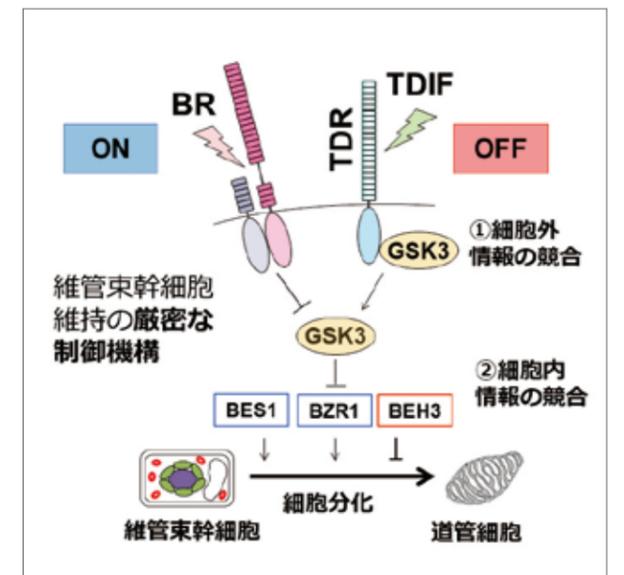
また、維管束幹細胞から多様な維管束細胞を生み出す運命決定機構も徐々に明らかになってきました。VISUALにおける深部イメージングから向背軸の位置情報が、維管束幹細胞の木部または節部細胞への分化運命の決定に重要であることを見出しました (Ref.4)。こうして位置情報に従って節部細胞の系譜に入った後、節部前駆細胞は節管細胞または節部伴細胞へと分化運命を決めていきます。この運命決定過程においても、新たに節部伴細胞を人工的に誘導できる分化系VISUAL-CCを確立し、その培地組成をヒントに節管細胞と節部伴細胞の運命を切り替える分子スイッチGSK3を発見しました (Ref.5)。このようにVISUAL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。

### 【今後の展望】

VISUALを用いた遺伝学解析及び遺伝子発現解析などから、維管束幹細胞制御する発生プログラムがネットワークとして理解できるようになってきました。一方で順遺伝学解析のアプローチから、BES/BZRの近傍で幹細胞維持に働く因子として概日時計や糖代謝、ストレス応答に関わる遺伝子が見つかってきています。これらのことから、植物の幹細胞は、発生プログラムだけでなく多様に化する環境に柔軟に対処する仕組みをもちあわせていると考えられます。今後は植物の生存戦略と照らし合わせて、幹細胞の制御機構について遺伝的要因と環境要因による統合的な理解を明らかにしていきます。

### 【関連する研究成果論文リスト】

- \*Saito M, Kondo Y, \*Fukuda H (2018) BES1 and BZR1 Redundantly Promote Phloem and Xylem Differentiation. *Plant Cell Physiol*, 59: 590-600.
- Furuya T, Saito M, Uchimura H, Satake A, Nosaki S, Miyakawa T, Shimadzu S, Yamori W, Tanokura M, Fukuda H, \*Kondo Y (2021) Gene co-expression network analysis identifies BEH3 as a stabilizer of secondary vascular development in Arabidopsis. *Plant Cell* 33:2618-2636.
- \*Kondo Y (2022) Competitive action between brassinosteroid and tracheary element differentiation inhibitory factor in controlling xylem cell differentiation. *Plant biotech*, in press
- \*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 Physiol*, 61: 255-264.
- Tamaki T, Oya S, Naito M, Ozawa Y, Furuya T, Saito M, Sato M, Wakazaki M, Toyooka K, Fukuda H, Helariutta Y, \*Kondo Y (2020) VISUAL-CC system uncovers the role of GSK3 as an orchestrator of vascular cell type ratio in plants. *Comms Biol*. 3: 184.



## 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

### 【研究の背景・目的】

植物にとって幹細胞を一定数維持し続けることは、持続的な成長を実現する上で不可欠です。また、幹細胞の質を保証するために、ゲノム恒常性を維持することも重要です。動植物を問わず、細胞の中では常にゲノム複製に伴うDNA損傷が起きていますが、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。そのため、植物は各種DNA損傷からゲノムを堅牢に守る仕組みを備えていると考えられます。そこで、本研究では植物幹細胞を量（細胞数）と質（ゲノム恒常性）の両面から支える制御系を解明し、植物がもつ永続的かつ旺盛な生命力の源を理解することを目指しています。

### 【研究成果】

シロイヌナズナの根端に存在する静止中心(QC)は、隣接する周囲の細胞に幹細胞性を付与するという重要な役割を担っています。したがって、QCを喪失させると幹細胞が分化することが知られています。コルメラ幹細胞は根冠を構成するコルメラ細胞を生み出しますが、娘細胞はすぐに分化するため、幹細胞は一層のまま維持されるという特徴をもっています。ところが、私達の研究により、CDKインヒビターの変異体では幹細胞層数が増えていることが明らかになりました。これらのCDKインヒビターはQCからのシグナルにより量的に制御されていることもわかり、位置情報を基に決定されるCDKインヒビターの量比が幹細胞の娘細胞の運命を分けることが明らかとなりました。これまでは主に転写因子の観点からコルメラ幹細胞の分化について議論されてきましたが、私達の研究により初めてコルメラ幹細胞の不等分裂を制御する実行因子の一つが見えてきました。

シロイヌナズナをDNA二本鎖切断の誘導剤で処理すると、茎頂や根端の幹細胞が細胞死を起こすことが知られています(図)。

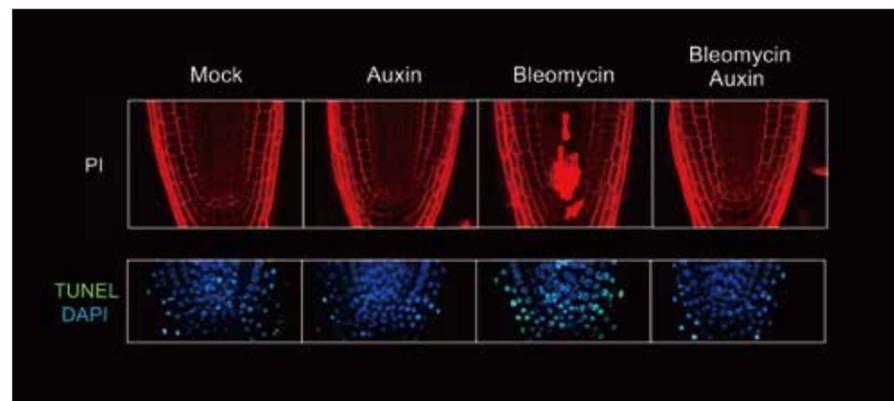
これはDNA損傷応答経路を介して誘発される現象なので、植物が能動的に細胞死を起こしていると言えます。私達は細胞死の直接的要因を探索したところ、オーキシンの低下が重要であることを見出しました(図)。そこで、オーキシンの低下が細胞死をもたらす細胞内プロセスについてさらに解析したところ、クロマチンの構造変化が関与していることを見出しました。つまり、オーキシンが低下するとヘテロクロマチンが緩和し、ゲノムがDNA損傷に対し高感受性になるため細胞死を起こす、と考えられます(図)。この結果は、通常はオーキシンがクロマチンを凝縮させ、ゲノムの安定化に寄与していることを意味するので、ホルモンによるゲノム恒常性の維持という全く新たな概念の提供につながると考えています。

### 【今後の展望】

幹細胞の不等分裂に関しては、CDKインヒビターの分配あるいは分裂後の消長を制御するメカニズムを明らかにすることにより、娘細胞に質的不等性をもたらす制御システムを細胞レベルで解明する必要があると考えています。また、幹細胞ゲノムの恒常性については、オーキシンの下流でクロマチン構造を制御する因子を同定しつつあるので、それらの機能解析を通じて、幹細胞ゲノムを安定的に保つ仕組みの全容解明につなげ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】

1. Takahashi, N., Inagaki, S., Nishimura, K., Sakakibara, H., Antoniadis, I., Karady, M., Ljung, K. and Umeda, M. (2021) Alterations in hormonal signals spatially coordinate distinct responses to DNA double-strand breaks in *Arabidopsis* roots. *Sci. Adv.* 7, eabg0993.
2. Shimotohno, A., Aki, S. S., Takahashi, N. and Umeda, M. (2021) Regulation of the plant cell cycle in response to hormones and the environment. *Annu. Rev. Plant Biol.* 72, 13.1–13.24.
3. Umeda, M., Ikeuchi, M., Ishikawa, M., Ito, T., Nishihama, R., Kyozuka, J., Torii, K., Satake, A., Goshima, G. and Sakakibara, H. (2021) Plant stem cell research is uncovering the secrets of longevity and persistent growth. *Plant J.* 106, 326–335.



図：DNA損傷に応答した幹細胞死の誘導  
DNA二本鎖切断を誘導するブレオマイ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(PI染色で赤く染まった部分)。この際、オーキシンも一緒に処理すると、幹細胞死の誘導は起きない。TUNEL法でDNAの断片化について調べたところ、オーキシン処理によりDNA損傷自体が起きにくくなっていることがわかった。つまり、オーキシンはゲノム恒常性の維持に重要な働きをもつことが明らかになった。

## 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】

哺乳類の多能性幹細胞は個体発生の初期にのみ一過的に出現します。この発生時期から樹立された多能性幹細胞(=胚性幹細胞またはES細胞)は細胞周期制御や染色体構造など様々な点で特徴的な性質を持ち、これらが多能性維持と密接な関係があると考えられています。

特に、ES細胞ではDNA複製装置の進行(DNA合成)速度に遅延がみられますが、その遅延は分化と共に解消することから多能性維持との関連性が示唆されています。一般的にDNA合成速度の低下は何らかの阻害要因の存在で説明されますが、ES細胞にどのような複製阻害要因が存在するのかは不明でした。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踏まえ、DNA複製による遺伝情報の継承は正確に行われる必要があります。ES細胞にはどのような複製阻害要因が存在し、どのように解消されているのでしょうか?私たちはマウスES細胞における染色体構造・細胞周期制御・ゲノム恒常性維持機構の連携を紐解くことで動物多能性幹細胞の特異性を理解することを目指してきました。

### 【研究成果】

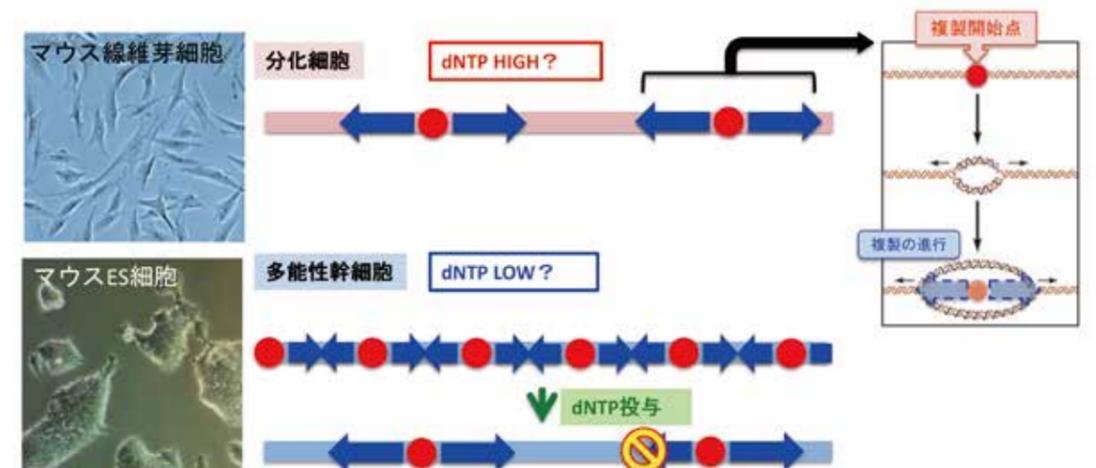
これまでにES細胞のDNA合成速度の遅延はDNAの構成単位であるdNTP量を増大させることで解消することを見出しました。一方、多能性を持たない線維芽細胞では同様の効果が見られないことから、dNTP量がES細胞特有のDNA合成速度を決定づける要因の一つであることがわかりました。興味深いことに、

dNTP量を増大させるとDNA合成速度は上昇するものの、ゲノム全体の複製完了までの時間は特に短縮されることはありません。これは、DNA合成速度の上昇に伴い複製開始点の数が減少し、ゲノム上に存在するDNA合成装置の数が減少するためだということがわかりました。

更に、dNTP量の増大によりDNA複製装置が突発的に止まりやすくなることがわかりました。線維芽細胞のDNA合成速度はdNTP量に関わらず高く維持されていますが、ES細胞のような複製装置の停止頻度の上昇は観察されていません。また、ES細胞において突発的にDNA合成が停止する要因としては染色体構造が寄与していることがわかりました。これらの結果から、哺乳類細胞においてdNTP量とDNA合成速度は細胞によって異なる範囲で維持されており、ES細胞ではこれを越えてDNA速度が上昇すると突発的な複製停止を引き起こすことが明らかになりました。

### 【研究の展望】

DNA複製は種を超えて保存された、生命を支える仕組みの一つです。そこには多くの共通した分子機構が存在する一方で、例えば同じマウスの細胞でも細胞種間で異なる制御を受けていることが見えてきました。今後ES細胞特有の細胞周期制御や染色体構造、dNTP産生制御との連携機構に対する理解を深めることで、多能性幹細胞を維持するための仕組みの理解につなげていければと考えています。



マウス多能性幹細胞のDNA複製制御(モデル図)

## 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 チームリーダー

### 【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析が難しいです。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、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 (RNA-seq, ATAC-seq) を植物細胞に応用する事を目的としています。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。

### 【研究成果】

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single cell RNA-seq (scRNA-seq) を行いました。Chromium (10x Genomics, 最も多く使われている手法) とNadia (Dolomite Bio) 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ップレット内に収めるドロップレット式で、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。解析の結果、我々の手元では細胞数が一番多いデータが得られたことから、10x Genomicsがベストでした (図1参照)。遺伝子数などではそこまで違いは見られませんでした。機器の使いやすさで言うとChromiumがベストです。

1細胞解析で難しいのはデータを作製した後のシーケンスデータ処理および解析です。本プロジェクトは複数のプラットフォームを使用し比較しましたが、その過程でバイオインフォマティクスがあまり強くない研究者でもデータを処理できるようなデータ処理パイプラインを構築しました (論文投稿中)。得にGUI (Graphical User Interface) を構築したことから、どのプラットフォーム

でフォームで作成したか関わらず、シングルセルのデータをターミナルを使わずにシーケンスデータを処理することができるようにしました。現在33種類のシングルセル手法から作成されたデータを処理することが可能です。

<https://github.com/minoda-lab/universc>

### 【今後の展望】

UniverSCの普及により、今後もさらにシングルセル解析がより一層の人に使える技術になることを期待しています。

Democratising single cell analysis!

### 【関連する研究成果論文リスト】

Kelly, S.T., Battenberg, K., Hetherington, N.A., Hayashi, M., Minoda, A., 2021. UniverSC: a flexible cross-platform single-cell data processing pipeline. *bioRxiv* 2021.01.19.427209. <https://doi.org/10.1101/2021.01.19.427209>

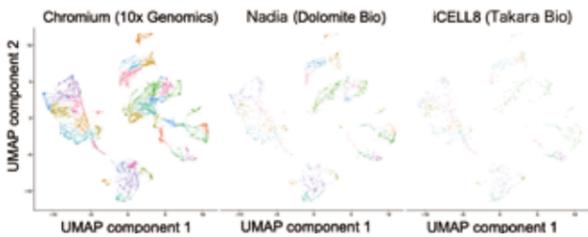


図1：シロイヌナズナ根端のSingle cell RNA-seq解析

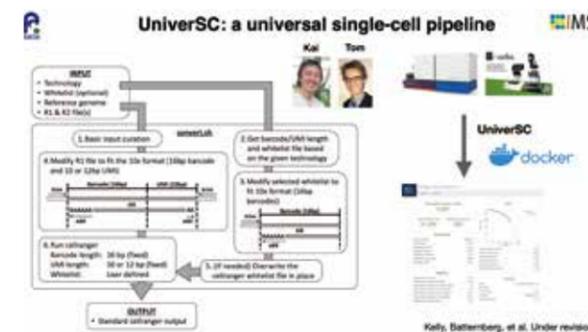


図2：Single cell RNA-seqシーケンスデータ処理ツール UniverSCの開発

## 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  
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】

長寿命生物は一般に、長く生きるほど有害な体細胞突然変異をため込むため、適応遺伝子の喪失と集団の崩壊をもたらす mutation meltdown を引き起こす可能性が古くから指摘されてきました。近年、超高速ゲノム配列決定技術が飛躍的に進歩したことによって、長寿命樹木においてゲノム体細胞間変異の蓄積パターンを定量的に分析することが可能となりました。これまで、ヨーロッパナ、ユーカリ、ポプラ、トウヒなど多様な樹種を対象に体細胞突然変異率が報告されてきましたが、いずれの値も極めて低いことから、樹木はDNA修復能を高め突然変異率自体を低く維持しているとの結論が導きだされつつあります。しかし、これまで活用された一塩基多型の検出方法は、厳しいフィルタリングのもと正確性の高いものだけを抽出していることから、偽陰性が高く突然変異率が過小評価される問題があると考えられていました。また枝の成長量の情報が取得されていないため、成長・あるいは年あたりの突然変異率の正確な推定が難しい点も問題でした。私達は、一塩基多型の検出条件を組み合わせ偽陰性と偽陽性の両方を最小化する方法を開発することで、これらの問題の解決に挑戦しました。

### 【研究成果】

赤道直下に生息する樹齢400年を超える熱帯産樹木 *Shorea laevis* から高品質ゲノムを作成し、1600年代に生じた芽生えから400年かけて蓄積した体細胞変異の検出によって、次世代集団が受ける自然選択や遺伝的浮動の前に生じた突然変異の速度を正確に推定することに成功しました。成長とともに体細胞突然変異数が線形に増加することを野外で初めて示し、この線形増加の関係をもとに新生突然変異率/塩基/年は  $1.11 \times 10^{-9}$  と推定さ

れました。本推定値はこれまでの長寿命樹木で推定された中で最も高いものです。突然変異スペクトルを詳細に分析すると、紫外線に対するDNA損傷によって引き起こされる変異 (C:G→T:A への変異) が最も多く53.1%を占めることが示されました。さらに、生じた突然変異はゲノム上に偏りなく存在していることから、幹細胞集団内では自然選択が働いておらずほぼ中立である可能性が示唆されました。これらの暫定的な結果をより詳細に分析するために、複数個体と他種へ本方法を適用し、同様の結果が得られるかについて検証を進めています。

### 【今後の展望】

一般に動物では、生殖細胞と体細胞は発生の初期に分離されるため、体細胞に生じた変異は次世代へ受け継がれず、個体の死とともに集団から消失します。これに対して植物では、体細胞の中でも多能性を永続的に維持する幹細胞に生じた変異は、花粉や胚珠を形作り次世代へ受け継がれます。そのため私達は、体細胞で生じる突然変異は、森林生態系におけるゲノム多様性の創出に寄与する重要なプロセスであると考えています。今後は、本研究を進展させ、集団レベルのゲノム多様性の創出機構の解明に取り組みたいと考えています。また、DNA修復遺伝子のコピー数変化や発現プロファイルの種間比較に関する研究を進めることで、突然変異率の種間・環境間の違いが生まれる機構の解明を目指します。

### 【関連する研究成果論文リスト】

Blue, Y. A., Kusumi, J., & Satake, A. (2021). Copy number analyses of DNA repair genes reveal the role of poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) in tree longevity. *iScience*, 24, 102779.



図1：ボルネオ島インドネシア領における調査の様子。

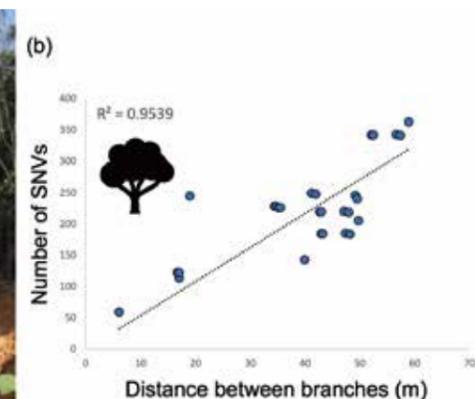


図2：Single Nucleotide Variant (SNV) の数と枝間距離の関係。

# A01 公募研究班／幹細胞の増殖

## 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

東京大学大学院理学系研究科 教授

植物の体づくりでは、茎の先端にあって地上部器官の元となるシュート頂端分裂組織 (SAM) と、根の先端にあって地下部器官の元となる根端分裂組織 (RAM) という、2つの頂端分裂組織がとくに重要な役割を担っています。各頂端分裂組織は特有の幹細胞と幹細胞を取り巻く微環境 (幹細胞ニッチ) をもち、それによって持続的な活動を実現しています。

頂端分裂組織は通常しかるべき決まった場所に生じますが、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となります。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が、これもそうした頂端分裂組織の新たな構築によります。シュートを再生させるときには、オーキシンを多く含むカルス誘導培地 (CIM) とサイトカ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、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。トレン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。

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旨とし、シロイヌナズナの2段階再生系とトレンニアの直接再生系を用いて研究を進めており、これまでに以下のような知見が得られています。

- ・2段階再生系において、CIM培養時に内生オーキシンの生合成や極性輸送を妨げると、シュート再生能が高まった。この

ときRAM関連因子の発現が上昇しており、とくに幹細胞制御因子の一つPLT7の発現レベルとシュート再生能の間には高い相関が見られた。

- ・TATA結合タンパク質関連因子の一種BTAF1をコードする遺伝子のミスセンス変異体*rgd3*は、2段階再生系のSIM培養段階において、SAM関連因子群の発現上昇に関して強い温度感受性を示したが、RAM関連因子群の発現低下は概ね正常であった。これより、RAM型からSAM型への幹細胞ニッチの転換はRAM型からの脱却とSAM型の確立という2つのステップからなること、BTAF1が後者に関与することが示唆された。

- ・トレンニアの直接再生系の時系列遺伝子発現プロファイルと細胞学的事象を詳細に解析した結果、サイトカニン非依存的に進行し、茎の特徴が弱まって根や葉など複数の器官の特徴を併せもつようになる第一相、サイトカニンに応答してリボソーム生合成系の遺伝子群などが発現し、核小体の発達、細胞分裂の活性化へとつながる第二相、SAM制御因子の発現が高まり、SAMの新構築が起きる第三相、という3つの相に分けられることを見出した。

今後はこれらの知見を基礎に、カルス形成過程におけるRAM型幹細胞ニッチの生成と状態の制御機構、RAM型からSAM型への転換の制御機構、二段階再生系と直接再生系に共通するSAM型幹細胞ニッチ誕生の要因を探っていきたく考えています。

### 【関連する研究成果論文リスト】

1. Otsuka K\*, Mamiya A\*, Konishi M, Nozaki M, Kinoshita A, Tamaki H, Arita M, Saito M, Yamamoto K, Hachiya T, Noguchi K, Ueda T, Yagi Y, Kobayashi T, Nakamura T, Sato Y, Hirayama T, Sugiyama M (2021) Temperature-dependent fasciation mutants provide a link between mitochondrial RNA processing and lateral root morphogenesis. *eLife* 10, e61611. (\*equally contributed)
2. Morinaka H, Mamiya A, Tamaki H, Iwamoto A, Suzuki T, Kawamura A, Ikeuchi M, Iwase A, Higashiyama T, Sugimoto K, Sugiyama M (2021) Transcriptome dynamics of epidermal reprogramming during direct shoot regeneration in *Torenia fournieri*. *Plant Cell Physiol* 62, 1335–1354.
3. Ohbayashi I\*, Sakamoto Y\*, Kuwae H, Kasahara H, Sugiyama M (2022) Enhancement of shoot regeneration by treatment with inhibitors of auxin biosynthesis and transport during callus induction in tissue culture of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Biotechnol* in press. (\*equally contributed)

### *Torenia fournieri*



図：トレンニアの直接シュート再生系 (写真撮影・作図：森中初音)

## 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 若奈

広島大学大学院統合生命科学研究所 助教

### 【研究の背景・目的】

ブランチ (枝) や花器官などの多くの器官は、植物のライフサイクルに応じて出現する腋生幹細胞 (腋芽幹細胞や花幹細胞を含む) から形成されます。そのため、植物の形づくりを理解する上で、腋生幹細胞の恒常性の維持機構を明らかにすることは非常に重要です。しかし、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。私たちのグループは、モデル植物イネを材料として、腋生幹細胞の維持機構を分子遺伝学的に明らかにすることを目的として研究を実施しました。

### 【研究成果】

以前私たちは、シロイヌナズナのWUSCHEL遺伝子に最も近縁なイネのTILLERS ABSENT1 (TAB1) 遺伝子が、腋芽形成過程の幹細胞を維持するために必要であることを明らかにしました (Tanaka et al., Plant Cell, 2015; Tanaka and Hirano, New Phytol., 2020)。本新学術領域研究では、花発生時のTAB1遺伝子の機能を以下のとおり明らかにしました。

tab1変異体は完全不稔であったため、その原因を詳しく調べた結果、胚珠が全く形成されていないことがわかりました (図)。イネの胚珠は、心皮分化後の花幹細胞から形成されることが知られていますので、tab1変異体では、この時期の幹細胞の活性が低

下している可能性が考えられました。詳しい解析により、tab1変異体では、花の発生初期には幹細胞は正常に維持されているものの、心皮分化後すなわち胚珠形成時には幹細胞が消失していることが判明しました。この結果から、TAB1遺伝子は、花の発生の最終時期まで幹細胞を維持するために必須であると考えられます。つまり、TAB1遺伝子は、胚珠形成時の幹細胞を維持することによって、胚珠形成を促す働きをしていることが明らかになりました。

### 【今後の展望】

本研究では、TAB1遺伝子が胚珠形成時の幹細胞の維持に必要な遺伝子であることを明らかにしましたが、花の発生初期の幹細胞維持に必要な遺伝子は未だ同定されていません。今後、その遺伝子を明らかにすることで、花幹細胞の維持機構の全貌に迫りたいと考えています。

### 【関連する研究成果論文リスト】

1. Tanaka W., Ohmori S., Kawakami N., and Hirano H.-Y. (2021) Flower meristem maintenance by TILLERS ABSENT1 is essential for ovule development in rice. *Development*, 148, dev199932.
2. 田中若奈 (2021) イネの分けつ形成を開始する遺伝的しくみ. *アグリバイオ* 5, 44-48.
3. Tanaka W. and Hirano H.-Y. (2020) The Roles of Two FLORAL ORGAN NUMBER Genes, FON1 and FON2, Differ in Axillary Meristem Development. *Cytologia*, 85, 319-324.



図：tab1変異体の花の表現型

# A01 公募研究班／幹細胞の増殖

## 従来の想定に無かった全く新しい 茎頂幹細胞維持機構と 多能性獲得機構の研究



研究代表者

打田 直行

名古屋大学遺伝子実験施設 教授

### 【研究の背景・目的】

植物の組織や器官の全てを生み出す源は、分化多能性を持つ幹細胞群です。本研究では、これら幹細胞群の中でも2つのタイプの幹細胞に着目しました。1つ目は、茎の先端に位置し、植物の地上部全てを生み出す幹細胞（茎頂幹細胞）です。私たちのグループは少し前に、この幹細胞の維持に必須とみなされてきた転写因子WUSを必要としない幹細胞維持機構が存在することを報告しました。そこで、本研究では、この新機構で働く因子群の同定を目指しました。2つ目は、分化済みの組織から新生し分化多能性を持つ幹細胞です。従来から、植物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加えた培地で培養すると、カルスと呼ばれる未分化な細胞塊が生じることがわかっていましたが、私たちのグループは、植物体の断片化もホルモン添加も行わずに根のカルス化を誘導する独自化合物（9D）を発見しました。9Dの分子構造は植物ホルモンに類似しておらず、9Dは従来の理解に無い多能性獲得の仕組みを作動させると想定されます。そこで、9Dを活用することで、多能性獲得の新側面を開拓することを目指しました。

### 【研究成果】

ERECTA (ER) ファミリーと呼ばれる遺伝子ファミリーが丸ごと働かない変異体 (*er-1*変異体) では、WUSが働かなくても茎頂幹細胞が維持されます。そこで、この植物の茎頂部を用いて網羅的な遺伝子発現解析を行ったところ、茎頂幹細胞の維持機構での働きが知られていなかった植物ホルモンであるジャスモン酸の働きが、この新たな幹細胞維持機構では重要な役割を果たして

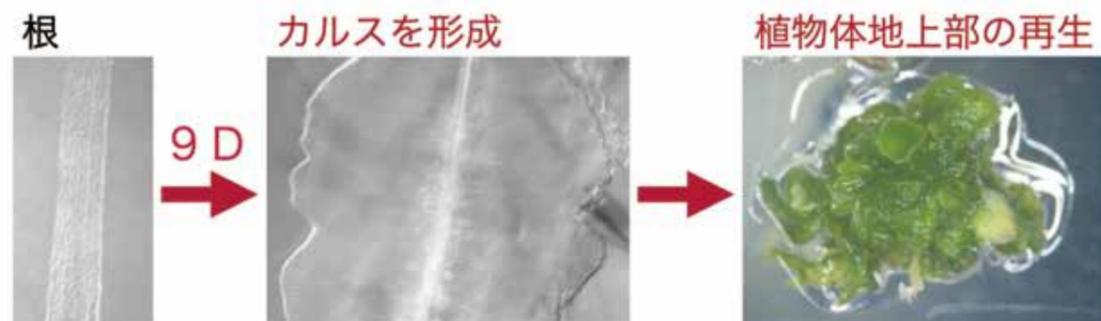
いることを見出しました。また、この仕組みの中では、ジャスモン酸の応答が亢進しすぎないための仕組みが作動していることもわかりました。

9Dを添加した植物では、「ゆっくりと」オーキシンの応答が生じることがわかり、さらに、9Dによるカルス化には、内因性のオーキシンによるオーキシン受容体を介した転写の活性化が必須なことがわかりました。さらに、9Dの添加後の網羅的な遺伝子発現解析を通じて、このオーキシン経路の活性化にはストレスに応答するタンパク質の働きが必須であることも見出しました。

### 【今後の展望】

茎頂幹細胞の維持機構に関しては、茎頂の組織内のどの場所や細胞でのジャスモン酸の応答がこの仕組みにおいて重要となっているのかを解析し、この仕組みの空間的な理解が進むと期待できます。また、茎頂でジャスモン酸によってどんな因子群の働きが調整されるのかも解析することで、この幹細胞維持機構で働くさらなるメカニズムに迫ることも目指します。

9Dの解析から見出したストレス応答タンパク質が具体的にどのようにオーキシン応答を引き起こすのか、そのメカニズムの解明を進めます。また、従来の植物ホルモンによるカルス作成法は植物の形質転換やクローン増殖など様々な方面で活用されますが、この従来法では分化多能性を持ったカルスの生成に至らない植物種も多く存在します。そこで、9Dそのものや、9Dの解析から見出す新たな因子群を活用することで、従来法ではカルス生成に至らなかった植物種でもカルスを作り出す技術の開発も期待できます。



図：9Dを添加して培養すると、分化済みの組織である根からカルスが生じる。このカルスを適切な培地に移して培養を続けると植物体の地上部が再構築される。

## 低オーキシン応答性の確立による 幹細胞形成



研究代表者

西浜 竜一

東京理科大学理工学部 教授

### 【研究の背景・目的】

陸上植物は多能性幹細胞を起点に組織や器官をつくる頂端成長を行います。被子植物では、受精卵からの胚発生の過程で新規に多能性幹細胞を形成します。陸上植物進化の初期に維管束植物と分岐したコケ植物でもそれは同様で、例えば葉状苔類のゼニゴケは、胞子発芽後のある時点で頂端細胞と呼ばれる多能性幹細胞が確立され、器官発生が起こり始めます。この制御には植物ホルモンであるオーキシンが関わることがわかってきていますが、その詳細についてはまだ不明な点が多くあります。

また、コケ植物の再生能力は非常に高く、ゼニゴケも葉状体を切断すると植物ホルモンを与えなくても細胞の運命転換（リプログラミング）により細胞分裂が誘導され、再生します。再生には方向性があり、頂端メリステムを切除した断片（基部側断片）の切断面からのみ再生します。頂端メリステムを含む切断片（頂端側断片）は頂端成長を継続し、切断面では何も起こりません。頂端メリステムで合成されることが知られているオーキシンを添加すると、基部側断片の再生が抑制されます。これまでの研究で、頂端側断片に比べて基部側断片の切断面において、オーキシン濃度が一過的に大きく低下することわかっていましたので、本研究ではオーキシン低下と細胞リプログラミングの関係を明らかにすることを目指しました。

### 【研究成果と今後の展望】

まず、トランスクリプトーム解析から、オーキシンレベル低下に反応して、基部側断片においてのみ発現が誘導される転写因子遺伝子 *LOW-AUXIN RESPONSIVE* (MpLAXR) を同定しました。MpLAXRはAP2/ERFファミリーのクラスVIIIbに属します。MpLAXR変異体では基部側断片で誘導される細胞分裂再開が遅延が生じ、再生が大きく遅れます。一方、MpLAXRを過剰発現すると、オーキシン存在下でも再生が起こるようになり、また切断をしない場合でも、通常は分裂しない細胞が分裂するようになります。以上のことから、傷害を受けるとオーキシンレベルが低下し、それ

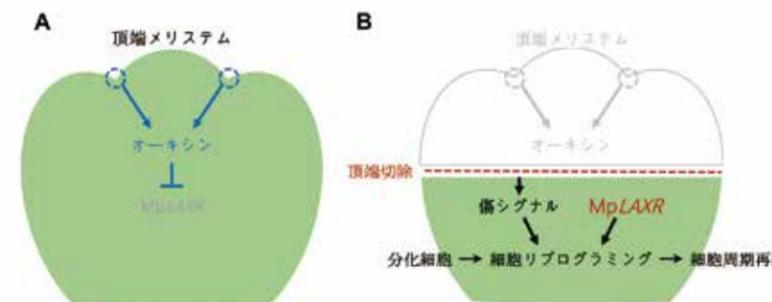
に反応して細胞リプログラミング因子MpLAXRが誘導され、再生という体制の再構築が引き起こされることが明らかになりました（図；Ishida et al. 2022）。

この発見により、オーキシン信号伝達により個体の統御性が監視されており、それに攪乱が生じると細胞リプログラミングが誘導されることが示唆されました。また、頂端で合成されるオーキシンにより基部側の細胞分裂が抑制されていて、頂端が切除されるとオーキシンが減少することにより細胞分裂が活性化するという仕組みは、被子植物の頂芽優勢による腋芽成長抑制の機構と類似しています。シロイヌナズナのMpLAXR相同遺伝子である *ENHANCER OF SHOOT REGENERATION 1/DORNROSCHEN* (*ESR1/DRN*) は、植物体地上部の再生を促進するというMpLAXRと同様な機能を持っているだけでなく、腋芽形成の初期にオーキシン極小領域で発現し、腋芽幹細胞形成を促進する機能をもつことも知られています。頂芽優勢の分子機構の進化に関する興味深い知見を得ることができました。

現在、オーキシン低下によりMpLAXRの発現が誘導される分子機構の解析や、MpLAXRが発現を制御する標的遺伝子の同定を行っています。それらを解明することで、幹細胞の形成や確立に関わる遺伝子制御ネットワークが見出されると考えています。

### 【関連する研究成果論文リスト】

- Ishida, S., Suzuki, H., Iwaki, A., Kawamura, S., Yamaoka, S., Kojima, M., Takebayashi, Y., Yamaguchi, K., Shigenobu, S., Sakakibara, H., Kohchi, T. and Nishihama, R. (2022) Diminished auxin signaling triggers cellular reprogramming by inducing a regeneration factor in the liverwort *Marchantia polymorpha*. *Plant Cell Physiol.* pcc004. (in press).
- Sakamoto, Y., Ishimoto, A., Sakai, Y., Sato, M., Nishihama, R., Abe, K., Sano, Y., Furuichi, T., Tsuji, H., Kohchi, T., and Matsunaga, S. (2022) Improved clearing method contributes to deep imaging of plant organs. *Commun. Biol.* 5: 12.
- Suzuki, H., Kohchi, T., Nishihama, R. (2021) Auxin biology in Bryophyta: a simple platform with versatile functions. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 13: a040055.
- Umeda, M., Ikeuchi, M., Ishikawa, M., Ito, T., Nishihama, R., Kyojima, J., Torii, K.U., Satake, A., Goshima, G., Sakakibara, H. (2021) Plant stem cell research is uncovering the secrets of longevity and persistent growth. *Plant J.* 106: 326-335.
- Kohchi, T., Yamato, K.T., Ishizaki, K., Yamaoka, S., Nishihama, R. (2021) Development and molecular genetics of *Marchantia polymorpha*. *Annu. Rev. Plant Biol.* 72: 677-702.
- Hernandez-Garcia, J., Sun, R., Serrano-Mislata, A., Inoue, K., Vargas-Chavez, C., Esteve-Bruna, D., Arbona, V., Yamaoka, S., Nishihama, R., Kohchi, T., Blazquez, M. A. (2021) Coordination between growth and stress responses by DELLA in the liverwort *Marchantia polymorpha*. *Curr. Biol.* 31: 3678-3686.



図：ゼニゴケ葉状体再生におけるオーキシン動態とリプログラミング因子MpLAXRの関係性に関するモデル (A) 健全な葉状体では、頂端で合成されたオーキシンが基部側に輸送されている。オーキシン信号伝達機構により、MpLAXRの発現は抑制されている。(B) 頂端切除により、基部側へのオーキシン供給が途絶え、その濃度が一過的に低下する。それが引き金となりMpLAXR発現が誘導され、細胞のリプログラミングが起こり、細胞分裂が再開する。傷害シグナルも細胞リプログラミングを誘導する。

# A01 公募研究班／幹細胞の増殖

## 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

植物の地上部器官のおもとしてシュート幹細胞群は、胚発生でつくられます。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、オーキシンやサイトカイニンといった植物ホルモンが幹細胞の維持に果たす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。

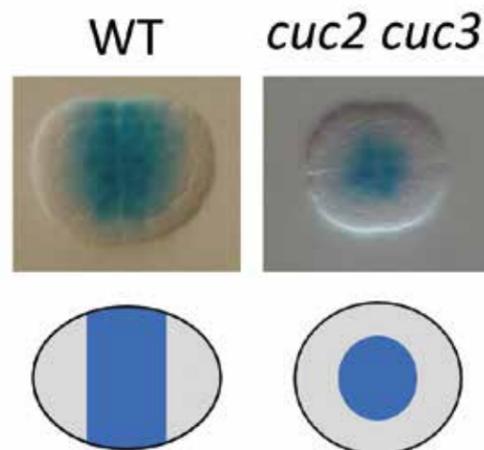
今回の公募研究で私たちは、シロイヌナズナのシュート幹細胞形成に必要な転写因子であるCUC1・CUC2・CUC3に着目し、これらの転写因子の制御下で、胚におけるオーキシンシグナルおよびサイトカイニンシグナルの時空間的な分布がどのように変動するのかを調べました。正常な胚において、オーキシンのシグナルは2つある子葉原基の先端部において強く、その間のシュート幹細胞を形成する領域においては逆に抑制されます。一方、サイトカイニンのシグナルは、子葉原基が形成される前の時期では前維管束でのみ強く検出され、子葉原基の形成が始まると徐々にシュート幹細胞の領域においても検出されるようになりました。次にCUCの機能が欠損した変異体における各ホルモンシグナルを解析したところ、オーキシンシグナルは子葉原基先端部に限定されずにランダムな局在を示し、一方のサイトカイニンシグナルはシュート幹細胞の領域における活性化が起きませんでした。これらの結果は、CUCタンパク質がそれぞれのホルモンシグナルの分布形成に重要な役割を果たすことを示してい

ます。

それでは、CUCはどのようにオーキシンシグナルの分布を調節するのでしょうか。私たちはオーキシンシグナルの抑制因子をコードするIAA18遺伝子に着目し、この遺伝子の発現領域がCUCの機能欠損により大きく縮小することがわかりました。さらにCUCの機能を欠損させた状態のままIAA18遺伝子の発現領域を強制的に拡大させたところ、オーキシンシグナルが再び子葉原基先端部に限定されるようになり、シュート幹細胞の形成も回復しました。

以上から、CUCタンパク質はオーキシン応答の抑制因子の発現を調節することで、胚におけるオーキシンシグナルの適切な分布をつくりだし、このことがシュート幹細胞形成に重要な役割を果たすことがわかりました。今後は、CUCタンパク質がサイトカイニンシグナルを調節するメカニズムや、CUCと二種のホルモンシグナル間の相互ネットワークを明らかにすることで、胚におけるシュート幹細胞形成に必要なホルモン微環境がどのように構築されるかが明らかにできると考えています。

1. Yamada M, Tanaka S, Miyazaki T, Aida M. Expression of the auxin biosynthetic genes *YUCCA1* and *YUCCA4* is dependent on the boundary regulators *CUP-SHAPED COTYLEDON* genes in the *Arabidopsis thaliana* embryo. *Plant Biotechnol*, in press. DOI: 10.5511/plantbiotechnology.21.0924a
2. Takahama A, Aida M. Visualization and quantification of cortical microtubules in the apical region of the *Arabidopsis thaliana* embryo (2021). *Cytologia* 86, 181-182.
3. Fujihara R, Uchida N, Tameshige T, Kawamoto N, Hotokezaka Y, Higaki T, Simon R, Torii KU, Tasaka M, Aida M (2021). The boundary-expressed *EPIDERMAL PATTERNING FACTOR-LIKE2* gene encoding a signaling peptide promotes cotyledon growth during *Arabidopsis thaliana* embryogenesis. *Plant Biotechnol* 38, 317-322.
4. Imoto A, Yamada M, Sakamoto T, Okuyama A, Ishida T, Sawa S, Aida M (2021). A ClearSee-based clearing protocol for 3D visualization of *Arabidopsis thaliana* embryos. *Plants* 10, 190.



図：正常胚 (WT) およびCUCの機能欠損突然変異体 (*cuc2 cuc3*) におけるIAA18 GUSレポーターの発現

## 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

### 【研究の背景・目的】

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、メリステムで維持され分化細胞を作り出します。分化細胞は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。本研究では、コケ植物ヒメツリガネゴケを使って、その仕組みの解明を目指しています。

### 【研究成果】

- ・ヒメツリガネゴケのSTEMIN1転写因子は、直接の標的遺伝子上にある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することで、分化細胞から幹細胞へと変化させます。その仕組みを明らかにするため、STEMIN1転写因子と結合する因子を探索し、H3K27me3修飾変化を引き起こす候補因子を見つけ出すことに成功しました。
- ・高感度のオーキシンセンサーラインを用いて、ヒメツリガネゴケの切断葉のオーキシンレベル変化を調べたところ、幹細胞化する過程でオーキシンレベルが一過的に減少し、原系体細胞になると、そのレベルが回復することがわかりました。

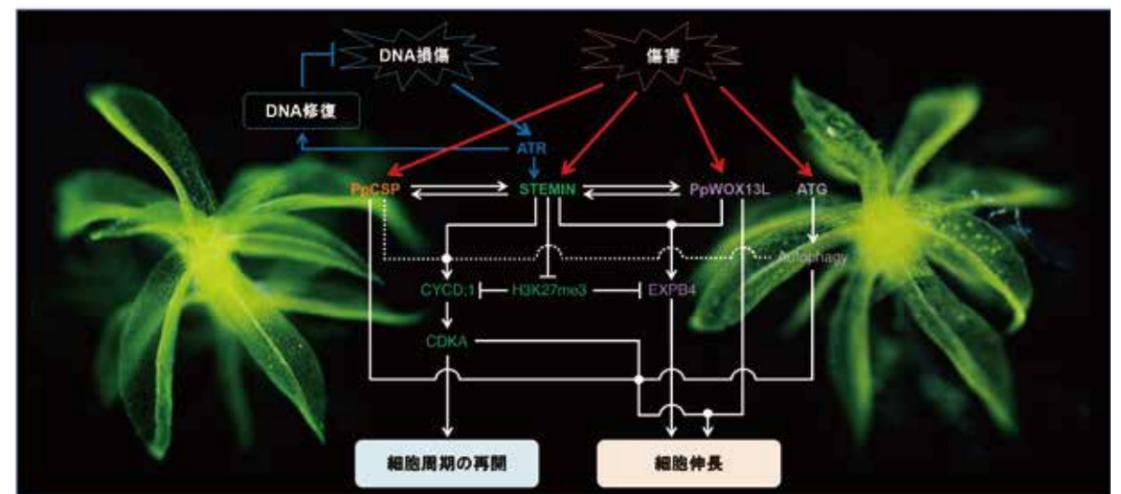
- ・DNA損傷は、ゲノムの安定性や細胞の生存に対して負の影響を及ぼします。ところが予想外にも、ヒメツリガネゴケの葉に一過的にDNA損傷を与えるとSTEMIN1遺伝子が発現し、幹細胞新生を誘導することがわかりました。
- ・オートファジーは、真核生物全般に保存されたシステムであり、細胞内小器官や細胞質成分を分解することで、細胞の生存と組織の恒常性維持に貢献しています。私たちは、オートファジー関連遺伝子の一つATG8遺伝子を過剰発現させると、幹細胞化が促進されることを発見しました。またATG8遺伝子は傷害刺激によって活性化されました。従って、傷害によって活性化したオートファジーが、細胞分化・機能維持に関わる細胞質因子を分解し、幹細胞化ポテンシャルを高める可能性が考えられました。

### 【今後の展望】

オーキシンレベルの低下とSTEMIN1遺伝子の発現制御、STEMIN1とSTEMIN1結合因子によるクロマチン修飾変化の関係、さらには、オートファジーによる傷害応答性の幹細胞化制御を明らかにすることで、植物の幹細胞化を制御する分子機構の全体像を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. Bao et al. (2022) *Sci. Advances* in press
2. Ishikawa and Hasebe (2022) *Curr. Opin. Plant Biol.* Online ahead of print
3. Kanne et al. (2021) *Autophagy* doi.org/10.1080/15548627.2021.1975913
4. Umeda et al. (2021) *Plant J.* 106, 326-335
5. Gu et al. (2020) *Nat. Plants* 6, 1098-1105



# A01 公募研究班／幹細胞の増殖

## 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 上級研究員

### 【研究の背景・目的】

植物は、一度分化した一つの細胞からでも幹細胞を新生させて植物体全体を再生できます。この植物の幹細胞新生の高い能力は、傷害ストレスが引き金となって発揮されることが多いです。特に、カルスと呼ばれる傷口に生成する不定形の細胞塊は、幹細胞新生の場となることが知られています。この研究では、カルスを構成する細胞がどのような特性を持ち、どのように幹細胞を新生させるかを明らかにします。

### 【研究成果】

植物の傷口でカルス形成を促進する働きをもつ遺伝子に *WIND1* があります。*WIND1* は他の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) をコードしています。そこで、培地に添加する化合物によって *WIND1* 遺伝子の発現を誘導できるシロイヌナズナ植物体を作製し、どんな遺伝子が *WIND1* 依存的に発現してくるかを調べました。この結果、これまでシロイヌナズナでカルス形成や器官再生に関わることが報告されている 91 遺伝子のうち、30 もの遺伝子が *WIND1* 誘導後に植物体やカルスで発現してくることが分かりました。この中にはカルス形成、茎葉や根の幹細胞の新生に関わる遺伝子も含まれていたことから (図)、*WIND1* の制御下には、カルス形成のみならず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が示唆されました (成果論文 1 および 2)。このような *WIND1* が制御し傷口のカルス化や幹細胞新生に関わる遺伝子の一つに *ESR1* があります。この遺伝子が傷口で野生株と比べて 2~3 倍程度強く発現する植物体を作製したところ、外因性の植物ホルモン無添加条件下で傷口からのカルスが大きく、また野生株では全く見られないカルスからの茎葉の再生が観察されました。この植物体を用いて、葉柄の傷口に形成されるカルスで幹細胞新生がどのように起こるか調べました。細胞一つ一つの核の中での遺伝子発現を検知する手法 (single nucleus RNA-seq 解析) を用いて、葉柄切断後 14 日目のカルスを調べたところ、*WIND1* はカルス細胞全体で発現がみられた一方、維管束幹細胞マーカー遺伝子などは一部の細胞クラスターで発現していることが分かりました。当初用いた手法では、検知できる遺伝子の数が少ないことや、実験の再現性に問題があったため、現在、核の単離手法とライブラリー作製法を変えて更なる解析を進めています。

### 【今後の展望】

カルスの塊で遺伝子発現を調べたところ、根の幹細胞、茎葉の幹細胞、維管束の幹細胞それぞれのマーカー遺伝子が葉柄切断

後 7 日目のカルスで既に高く発現していることが分かりました。0~7 日までの時系列での single nucleus RNA-seq 解析データを得ることで、幹細胞化する細胞の特性や幹細胞化に向かう遺伝子発現ネットワークの詳細が分かると期待しています。また、傷害誘導性カルスの single nucleus 解析手法を用いて、幹細胞化する細胞系列のクロマチン状態の変化を観察したり、再生を促進する効果を示す化合物 (成果論文 3) などの分子的な役割を調査したりする研究を進め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】

1. Iwase A, Kondo Y, Laohavisit A, Takebayashi A, Ikeuchi M, Matsuoka K, Asahina M, Mitsuda N, Shirasu K, Fukuda H, Sugimoto K (2021) WIND1 transcription factors orchestrate wound-induced callus formation, vascular reconnection and defense response in Arabidopsis. *New Phytologist* 232:734-752.
2. Ikeuchi M, Iwase A, Ito T, Tanaka H, Favero DS, Kawamura A, Sakamoto S, Wakazaki M, Tameshige T, Fujii H, Hashimoto N, Suzuki T, Kazuhiro Hotta K, Toyooka K, Mitsuda N, Sugimoto K (2021) Wound-inducible WUSCHEL-RELATED HOMEBOX 13 is required for callus growth and organ reconnection. *Plant Physiology*: accepted.
3. Iwase A, Takebayashi A, Aoi Y, Favero DS, Watanabe S, Seo M, Kasahara H, Keiko Sugimoto (2022) 4-phenylbutyric acid promotes plant regeneration as an auxin by being converted to phenylacetic acid via an IBR3-independent pathway. *Plant Biotechnology* 39: accepted.

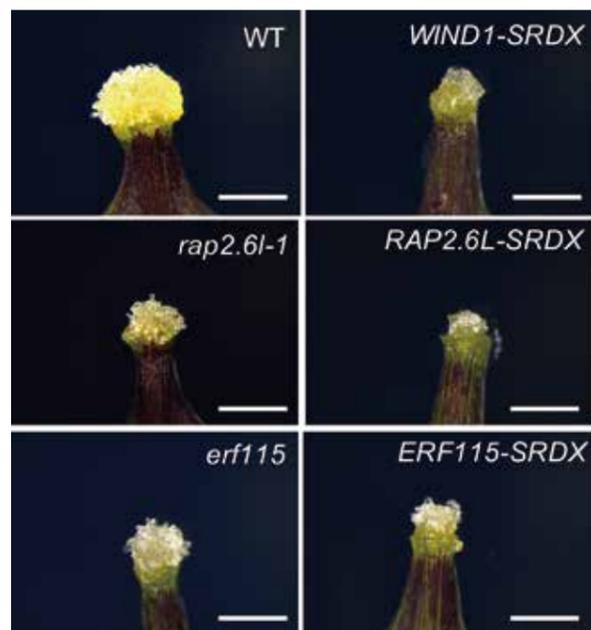


図: *WIND1* が制御する転写因子の機能抑制・欠損株における傷口のカルス形成抑制  
シロイヌナズナの葉柄の切断部位にできたカルスの写真。転写因子 *WIND1* の機能抑制植物体 (*WIND1-SRDX*)、*RAP2.6L* と *ERF115* という転写因子の機能欠損変異体 (*rap2.6l-1* と *erf115*) および機能抑制植物体 (*RAP2.6L-SRDX* と *ERF115-SRDX*) のカルスは、野生株 (WT) に比べて小さかった。スケールバーは 1mm。

## 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

### 【研究の背景・目的】

植物は高い再生能力を持っており、多くの種では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組織片を培養することで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があります。再生能力を制限する内在的な制御機構の存在が想定されますが、その分子実体は不明でした。

### 【研究成果】

私はこれまでに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 2021, *Plant Physiol.*; Ikeuchi et al., 2017, *Plant Physiol.*; 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で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、幹細胞新生を制限する新規の遺伝子が発見しました。この遺伝子はホメオボックス型の転写因子をコードしており、機能が欠損した突然変異体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、ホメオボックス転写因子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仮説を立てました。

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転写因子の突然変異体を比較する解析を行いました。また、私が着目しているホメオボックス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ました。その結果、細胞の多能性制御に関わる *WUS*, *WOX5*, *PLT1,2* などの遺伝子群の発現を抑制する一方で、細胞伸長を促進する *EXPANSIN* などの遺伝子座に結合して直接的に発現誘導していることが明らかになりました。

### 【今後の展望】

シュート再生を抑制するホメオボックス型転写因子の直接標的遺伝子群の絞り込みに成功したので、今後はこれら遺伝子群が再生の制御において果たす役割を解明していきたいと考えています。本研究によって、器官再生を制限する内在的な制御機構を解明することができれば、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。

### 【関連する研究成果論文リスト】

1. Ikeuchi M\*, Iwase A, Ito T, Tanaka H, Favero DS, Kawamura A, Sakamoto S, Wakazaki M, Tameshige T, Fujii H, Hashimoto N, Suzuki T, Hotta K, Toyooka K, Mitsuda N, Sugimoto K. Wound-inducible WUSCHEL RELATED HOMEBOX 13 is required for callus growth and organ reconnection. *Plant Physiology* 2021, doi: 10.1093/plphys/kiab510.
2. Iwase A, Kondo Y, Laohavisit A, Takebayashi A, Ikeuchi M, Matsuoka K, Asahina M, Mitsuda N, Shirasu K, Fukuda H, Sugimoto K. WIND transcription factors orchestrate wound-induced callus formation, vascular reconnection and defense response in Arabidopsis. *New Phytologist* 2021, 232: 734-752.
3. Morinaka H, Mamiya A, Tamaki H, Iwamoto A, Suzuki T, Kawamura A, Ikeuchi M, Iwase A, Higashiyama T, Sugimoto K, Sugiyama M. Transcriptome Dynamics of epidermal reprogramming during direct shoot regeneration in *Torenia fournieri*. *Plant and Cell Physiology* 2021 doi: 10.1093/pccp/pcab101.
4. Umeda M, Ikeuchi M, Ishikawa M, Ito T, Nishihama R, Kyozyuka J, Torii UK, Satake A, Goshima G, Sakakibara H. Plant stem cell research is uncovering the secrets of longevity and persistent growth. *Plant Journal* 2021, doi: 10.1111/tpl.15184.
5. Coleman D, Kawamura A, Ikeuchi M, Favero DS, Lamboloz A, Rymen B, Iwase A, Suzuki T, Sugimoto K. The SUMO E3 ligase negatively regulates shoot regeneration. *Plant Physiology* 2020, 184: 330-344.
6. Ikeuchi M\*, Rymen B, Sugimoto K. How do plants transduce wound signals to induce tissue repair and organ regeneration? *Current Opinion in Plant Biology*. 2020, 57: 72-77.

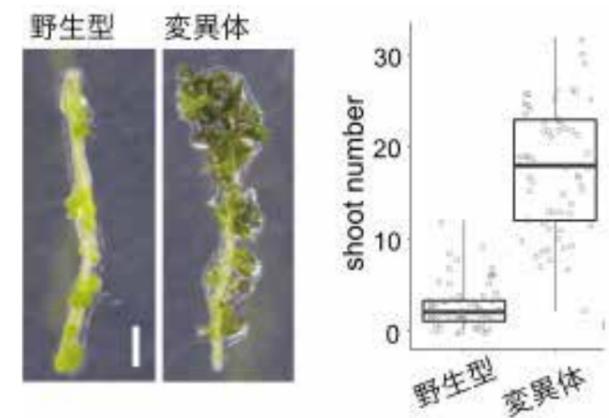


図: 野生型に対して、ホメオボックス型転写因子の変異体では形成されるシュート (再生芽) の数が著しく増加する表現型を示す。

## コケ植物から解き明かす 植物幹細胞に特有の動作原理



研究代表者  
藤田 知道

北海道大学大学院理学研究院 教授

### 【研究の背景・目的】

幹細胞は多細胞生物を形作るために特に重要な細胞です。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。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、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、また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。

### 【研究成果および今後の展望】

ヒメツリガネゴケ原系体の頂端幹細胞は観察が比較的容易です。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、細胞運命を変化させています。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御するなどにより、頂端幹細胞の不等分裂を制御していることを見出しました。この仕組みは、発達した液胞を持たない動物幹細胞では見られず、植物幹細胞に特有の仕組みです。

また、細胞膜に存在する比較的小さな膜局在型糖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を見出しました。このタンパク質を欠損すると細胞壁の構成成分が変化し、茎葉体の形成不全になることもわかりました。この糖タンパク質は植物に特有であることからやはり動物にはない植物に特有の幹細胞の分裂様式や細胞活性の制御の仕組みがわかってきたことになりそうです。

幹細胞の運命制御には細胞間コミュニケーションの制御も重要です。植物では細胞間コミュニケーションは動物にはない特有の原形質連絡という構造が重要な働きをしています。しかし原形質連絡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、原形質連絡制御の解析を進めました。そして本研究により頂端幹細胞がス

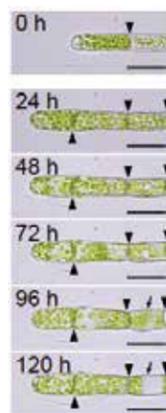
トレス耐性細胞に運命転換するとき重要な原形質連絡の制御因子を2種類明らかにし、その制御に関わると考えられる合成化合物を3種類同定いたしました。今後はこれらの因子、化合物を手掛かりに原形質連絡の制御がどのように幹細胞の運命制御に関わるのかを明らかにしていく予定です。

### 【関連する研究成果論文リスト】 (原著論文)

1. Akihiko Hiroguchi, Kohei Nakamura and **Tomomichi Fujita** (2022) Abscisic acid switches cell division modes of asymmetric cell division and symmetric cell division in stem cells of protonemal filaments in the moss *Physcomitrium patens*. *Plant Biotechnology*, (in press).
2. Eggie Febrianto Ginanjar, Ooi-kock Teh and **Tomomichi Fujita** (2022) Characterisation of rapid alkalisation factors (RAFLs) in *Physcomitrium patens* reveals functional conservation in tip growth. *New Phytologist*, (doi:10.1111/nph.17942) (in press).
3. Liang Bao, Natsumi Inoue, Masaki Ishikawa, Eiji Gotoh, Ooi-Kock Teh, Takeshi Higa, Tomoro Morimoto, Eggie Febrianto Ginanjar, Hirofumi Harashima, Natsumi Noda, Masaaki Watahiki, Yuji Hiwatashi, Masami Sekine, Mitsuyasu Hasebe, Masamitsu Wada and **Tomomichi Fujita** (2022) A PSTAIRE-type cyclin-dependent kinase controls light responses in land plants. *Science Advances*, (in press).
4. Hiroki Wakabayashi, Osamu Matsuda, **Tomomichi Fujita** and Atsushi Kume (2021) Practical application of proximal sensing for monitoring the growth of *Physcomitrium patens*. *Biological Sciences in Space*, Vol.35, 32-40, 2021.
5. Kameo, S., Aso, M., Furukawa, R., Matsumae, R., Yokono, M., **Fujita, T.**, Tanaka, A., Tanaka, R., and Takabayashi, A. (2021) Substitution of deoxycholate with the amphiphilic polymer amphipol A8-35 improves the stability of large protein complexes during native electrophoresis. *Plant and Cell Physiology*, 62, 348-355. (DOI: 10.1093/pcp/pcaa165)

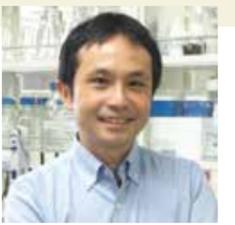
### (総説・著書)

1. Takumi Tomoi, Yoan Coudert and **Tomomichi Fujita** (2022) Tracking intercellular movement of fluorescent proteins in bryophytes. In *Methods in Molecular Biology* volume 2457, on "Plasmodesmata, Methods and Protocols" (2nd ed) (Yoselin Benitez-Alfonso and Manfred Heinelein, editors), Chapter 23.
2. Arthur Muller, **Tomomichi Fujita** and Yoan Coudert (2022) Callose detection and quantification at plasmodesmata in bryophytes. In *Methods in Molecular Biology* volume 2457, on "Plasmodesmata, Methods and Protocols" (2nd ed) (Yoselin Benitez-Alfonso and Manfred Heinelein, editors), Chapter 12.
3. Satoshi Naramoto, Yuki Hata, **Tomomichi Fujita** and Junko Kyoizuka (2021) The bryophytes *Physcomitrium patens* and *Marchantia polymorpha* as model systems for studying evolutionary cell and developmental biology in plants. *The Plant Cell*, (DOI: https://doi.org/10.1093/plcell/koab218) (in press).
4. **Tomomichi Fujita**, Fabien Nogué, Stefan A. Rensing, Daisuke Takezawa and Luis Vidali. (2021) Molecular biology of mosses. *Plant Molecular Biology*, 107, 209-211. (https://doi.org/10.1007/s11103-021-01218-9)
5. Atsushi Kume, Hiroyuki Kamachi, Yusuke Onoda, Yuko T. Hanba, Yuji Hiwatashi, Ichirou Karahara and **Tomomichi Fujita** (2021) How plants grow under gravity conditions besides 1 g: Perspectives from hypergravity and space experiments that employ bryophytes as a model organism. *Plant Molecular Biology*, 107, 279-291. (https://doi.org/10.1007/s11103-021-01146-8)



図：頂端幹細胞がストレス耐性細胞に運命転換するときの様子。短く丸みを帯びた細胞に変わる。この時、原形質連絡を介した細胞間コミュニケーションも同時に抑制される。矢頭は細胞壁を、矢印はやがて細胞死すると考えられる細胞をそれぞれ示す。hは時間。(提供：友井拓実博士)

## 多能性幹細胞傷害後の クロマチン変換とDNA損傷発生 および修復経路の解明



研究代表者  
柴田 淳史

群馬大学未来先端研究機構 准教授

### 【研究の背景・目的】

多能性幹細胞や細胞の分化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。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、DNA損傷発生から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・外的要因を介して常に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損傷に反応するクロマチン構造の変換様式は多彩であり、またDNA損傷後の時間帯によってその意義が異なってきます。つまり、細胞がいつ、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損傷から時系列を追って、1) DNA損傷、2) 遺伝子発現調節、という二つの細胞応答に対して、クロマチンがいつどこでどのように変化し、細胞運命の決定に影響を及ぼしているかを研究しています。

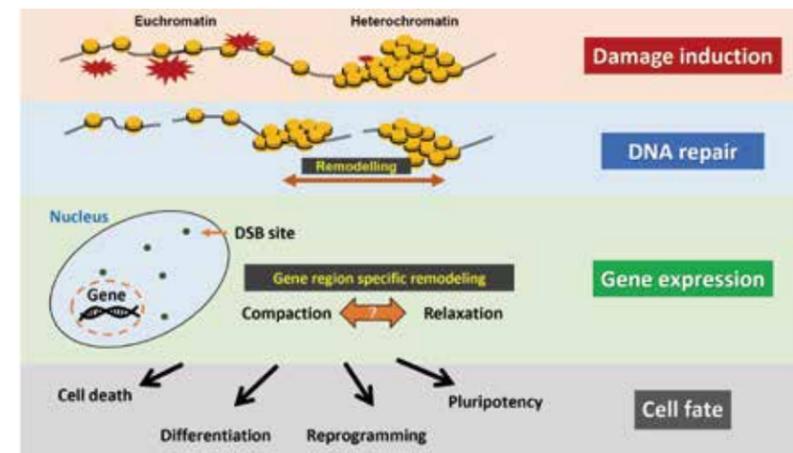
### 【研究成果】

DNA損傷後、細胞はDNA修復を推進するためにクロマチン構

造を変化させると言われています。そのクロマチン構造変換を可視化するために、私たちはDNA損傷マーカーであるγH2AXに対して超解像イメージング解析を行いました。その結果、53BP1はDSB周囲に微小な集積体（ナノフォーサイ）を形成していることを見出しました。これらナノフォーサイはDNA修復を遂行するために、適切なクロマチン構造を構築することで役立っているのではないかと考えています。さらに私たちは、次世代シーケンス解析を用いて、分化細胞、マウス多能性幹細胞、神経幹細胞が、DNA損傷を受けた場合の遺伝子発現変化を網羅的に解析しました。その結果、分化細胞および神経幹細胞でのみ、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。またヘテロクロマチン構成因子の遺伝子発現量低下と一致するように、クロマチン状態を測定するATAC-seq解析を行うと、DNA損傷を受けた細胞はゲノムワイドにクロマチンが弛緩していることがわかりました。現在は、ゲノム内のどの配列が弛緩しているかを同定するためにATAC-seqを用いて解析を行っています。

### 【今後の展望】

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。一方で分化細胞に対してDNA損傷を与えると、細胞の初期化といわれるリプログラミング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、多能性幹細胞の維持および細胞のリプログラミング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：DNA損傷発生後の階層的クロマチン制御  
DNA損傷発生後、細胞はDNA修復を適切に行うために、DNA損傷近傍のクロマチン状態を変換させます。その後、細胞運命決定を行うために、損傷細胞および組織全体にシグナル伝達を行うために遺伝子発現を上昇または抑制します。この遺伝子調節にはクロマチン制御が重要であることが分かっています。これらの過程は階層的であり、それぞれのステップで異なるクロマチン制御イベントが起こっていると考えられ、それらの統合的制御が最終的な細胞の運命決定に影響を及ぼすと考えられています。

## 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

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

多細胞生物は様々な特性をもった細胞の集合体ですが、動物と植物ではその発生過程に大きな違いがあります。動物の体づくりは胚発生段階で完了し、後戻りはできません。一方、植物では胚発生段階で発芽時の形態が作られますが、その後の発生過程でも容易にその設計図を書き換える（細胞を初期化し再分化を指示）ことができます。このような柔軟性は植物細胞が潜在的に幹細胞性を維持することによるところが大きく、この能力があるからこそ、植物は生育環境に合わせて必要な器官を形成することができます。本研究では、植物細胞が幹細胞性を獲得し、微小環境（ニッチ）を形成する仕組みを明らかにすることによって、植物発生の基盤原理を明らかにしたいと考えています。

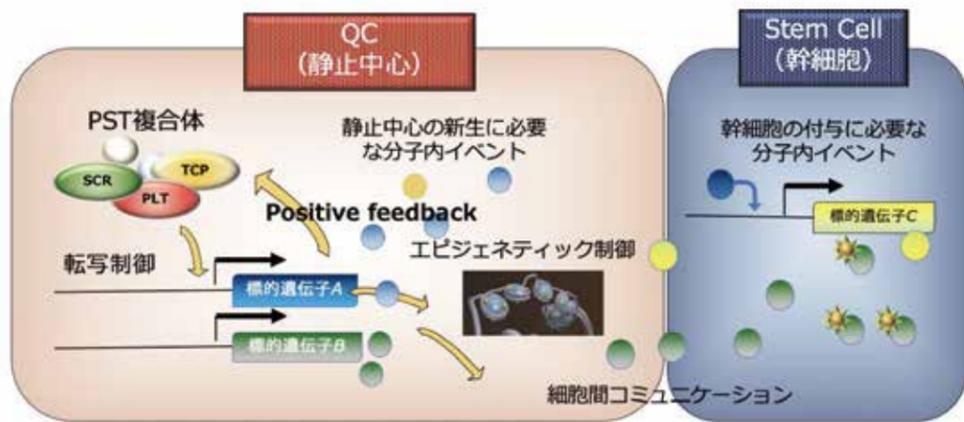
植物の根は生育環境に大きく左右される器官です。これまでの研究で、植物特異的な転写因子PLETHORA(PLT)が根の形成に必要不可欠であることが知られています。私は以前、PLTと直接相互作用する因子としてSCARECROW (SCR) と *Tesosinte branched1/Cycoidea/Proliferating cell factor* (TCP) を同定し、これらの多重機能欠損体では、PLTファミリーの多重変異体と同様に、根幹細胞の新生過程に重篤な異常が観察されることを報告しました。一方で、これらの因子は幹細胞の新生前に発現量が最大となり、幹細胞ニッチの形成に重要な働きを持つ静止中心 (Quiescent Centre) のマーカーとして知られるWOX5の発現を直接誘導することがわかりました。

これらの異所的な発現誘導は幹細胞新生を誘導し、逆に変異株では細胞初期化能が著しく低下していることも見出しています。したがって、この三種類の植物特異的な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必須の役割をもつと考えられます。そこで、本研究ではPST複合体を時空間特異的に誘導発現できる系を構築し、下流のイベントを解明しようとしています。現在までに、PST複合体の下流にはWOX5などの転写因子群の他に、クロマチン制御因子、細胞間コミュニケーションに関連する因子が多く含まれることがわかっています。

動物の幹細胞研究でも、幹細胞性の獲得や維持においては細胞間の位置情報やクロマチン構造のダイナミクスが重要な役割をもつことが示唆されていますが、本研究により、果たして植物の幹細胞新生過程でも同様の仕組みが機能しているのか、また植物の多能性幹細胞を特徴付ける独自の仕組みが存在するのかなど、新たな知見が得られるものと期待されます。

### 【関連する研究成果論文リスト】

1. Akie Shimotohno, Shiori S Aki, Naoki Takahashi, Masaaki Umeda Regulation of the Plant Cell Cycle in Response to Hormones and the Environment. *Annu Rev Plant Biol.* 2021 Jun 17;72:273-296.
2. Dichao Ma, Satoshi Endo, Shigeyuki Betsuyaku, Akie Shimotohno, Hiroo Fukuda CLE2 regulates light-dependent carbohydrate metabolism in Arabidopsis shoots. *Plant Mol Biol.* 2020 Dec;104(6):561-574.
3. 植物の情報を伝える経路-環境メディエータとシグナル伝達の秘密に迫る 福田裕穂 下遠野明恵 遠藤暁詩 *遺伝生物の科学* (2020) 74(5) 574-579.



図：静止中心の新生と隣接する細胞の幹細胞化に必要なPST複合体を起点とする分子ネットワークの概要

## 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

### 【研究の背景と目的】

植物は側根を形成することで地下に根を広げ、地上に繁栄することができました。シロイヌナズナにおいては、根の中心柱の一番外側の細胞層である内鞘細胞層のうち、道管側に位置する細胞である道管側内鞘細胞 (Xylem pole pericycle cell: XPP細胞) のみが側根形成開始能力を持っています。XPP細胞は自発的に発生するオーキシニンピークに反応した不等分裂 (formative cell division / asymmetric cell division) を経て直接側根メリステムを形成します。また、シロイヌナズナの根に外からオーキシニンを与えると、内鞘細胞だけが細胞分裂します。内鞘細胞の持つこの能力はどのようにして与えられているのかを解明します。

### 【研究成果】

内鞘細胞のアイデンティティを支配する転写因子は、内鞘細胞で優先的に発現していることが考えられるので、そのような転写因子を対象に機能解析を行った結果、全身的に強制発現させた時に、本来の内鞘細胞の位置以外の細胞にも内鞘細胞の性質を与えることができる遺伝子 (PERICYCLE FACTOR TYPE A:PFA) 群を見出しました。PFAsはbasic helix-loop-helix (bHLH) タイプの転写因子で、全身的に強制発現をさせると、内鞘細胞マーカー遺伝子が異所的に発現し、また、内鞘細胞以外もオーキシニンに反応した細胞分裂を行うようになります。逆にPFA1-PFA6の6つのPFA遺伝子を破壊すると側根がほとんど形成されなくなり、オーキシニンに反応した内鞘細胞の細胞分裂能も消失します。また、産業技術総合研究所の光田展隆博士らの共同

研究で、PFAsは、別クレードに属するbHLH転写因子であるPFBsと結合することがわかりました。PFBsのターゲットを抑制しても内鞘細胞機能が失われます。PFA/PFBは内鞘細胞の幹細胞様の性質を付与する重要な転写因子と言えます。

次に、PFA/PFB複合体がどのようにして内鞘細胞の性質を与えるのかを知るために、龍谷大学の永野博博士との共同研究で *pfa* 突然変異体やPFBのターゲット遺伝子抑制系を用いたRNAseq解析を行いました。これにより、PFA/PFB依存的にオーキシニン誘導される遺伝子群がわかってきました。

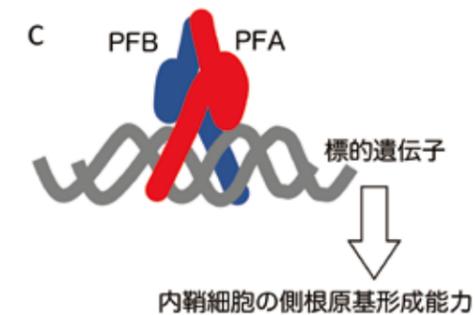
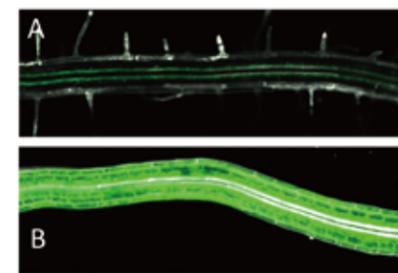
内鞘細胞からの側根形成は自己組織化であるので、細胞間相互作用が必須です。赤外線レーザーを用いた単一遺伝子発現系IR-LEGOを用い、本来は側根原基創始細胞で発現している分泌ペプチドを内鞘細胞の単一細胞で人為的に発現させるとその細胞が細胞分裂を行なって側根原基になることもわかってきました。

### 【今後の展望】

PFA/PFBに依存して発現する遺伝子群はRNAseq解析によってわかってきましたが、これらの遺伝子の機能を知る必要があり、突然変異体解析などを行います。これにより、内鞘細胞によるオーキシニン受容から細胞分裂に至る過程を明らかにしたいと考えています。また、内鞘細胞から側根原基初期の形成過程に関わる細胞間コミュニケーション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】

1. Zhang Y, Mitsuda N, Yoshizumi T, Horii Y, Oshima Y, Ohme-Takagi, M, Matsui M, Kakimoto, T. Two types of bHLH transcription factor determine the competence of the pericycle for lateral root initiation. *Nature Plants* 7(5) 633-643 2021
2. Zhang Y, Umeda M, Kakimoto T. Pericycle cell division competence underlies various developmental programs. *Plant Biotech.* In press



図：A, B. XPPのみでGFPを発現する系統 (J0121) (A) とJ0121中でPFA1を全身的に過剰発現した植物 (B) . C. 内鞘細胞機能が付与される仕組みのモデル。PFA/PFB複合体が標的遺伝子群に結合してオーキシニン応答性細胞分裂能などの内鞘細胞アイデンティティが付与される。

## 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先端科学技術研究科 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。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、花において幹細胞活性が抑制されるメカニズムを理解し、その最適化を図ることは効率的な食糧生産にとって重要な課題です。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。これまでに私たちの研究グループでは、花発生において幹細胞の増殖抑制に重要な役割を果たす2つの転写制御因子であるSUPERMAN (SUP) とCRABS CLAWが、それぞれ植物ホルモンであるオーキシンの調節に作用していることを示してきました。本研究提案では、オーキシンおよびそれとは相反する作用をもつとされるサイトカイニンシグナルに着目して、シロイヌナズナ花幹細胞の増殖抑制過程における作用機序を解明することを目指すとしています。

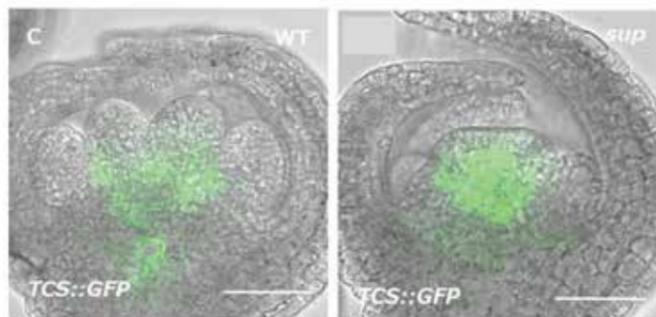
### 【研究成果】

これまでの私たちの解析から、SUPは花発生の若い時期（ステージ3）においてH3K27me3を導入するヒストンメチル化酵素であるポリコム複合体とタンパク質相互作用して、植物ホルモンの一つであるオーキシンの合成を制御するYUCCA1 (YUC1) およびYUC4遺伝子の転写を抑制することが分かっています (EMBO Journal e97499, 2018)。次に、私たちはSUPの更なる下流ネットワークの解明のため、花発生の同調系を用いて、野生型とsup変異体における花のステージ特異的な遺伝子発現をRNA-seqとChIP-seqにより解析しました。その結果、ステージ6のsup変異体の花メリステムで植物ホルモン関連遺伝子の発現が上がっていることを見つけました。サイトカイニンのシグナル伝達を制御するARABIDOPSIS HISTIDINE

PHOSPHOTRANSFER PROTEIN6 (AHP6) 遺伝子、オーキシンのシグナル伝達を制御するANT-LIKE 6 (AIL6) 遺伝子、DORNROSCHE-LIKE (DRNL) 遺伝子などの発現が、sup変異体において野生型より発現量が高い結果となりました。RNA-seqとChIP-seqにより同定した遺伝子のうち、オーキシンの影響下において、サイトカイニンのシグナル伝達に関わるAHP6遺伝子に注目しました。ステージ6のsup変異体の花メリステムにおけるAHP6遺伝子の発現を調べたところ、sup変異体においてpAHP6::GFPは花メリステムの周縁部から異所的に形成される雄しべ原基で発現していました。そこで、sup変異体でのAHP6の異所的発現が花器官形成に及ぼす影響を調べるため、sup ahp6二重変異体の表現型の解析を行ったところ、ahp6変異はsup変異体の表現型を部分的に相補することが分かりました。これらの結果より、ステージ6の花メリステムにおいて、SUPはAHP6の異所的な発現を抑えることで雄蕊や心皮の数を決めることが示唆されました。これらの知見は、オーキシンおよびサイトカイニンが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。そこで、実際にsup突然変異体においてオーキシンレポーターであるDR5::GFPやサイトカイニンレポーターであるTCS::GFPを観察したところ、SUPは花幹細胞の増殖抑制時に、花の中央領域においてサイトカイニン量を減らすことで、花幹細胞の異常増殖を抑えていることが分かりました (図)。

### 【関連する研究成果論文リスト】

- Shang E, Wang X, Li T, Guo F, Ito T, Sun B. (2021) "Robust control of floral meristem determinacy by position-specific multifunctions of KNUCKLES." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 118, e2102826118, doi:10.1073/pnas.2102826118
- Pelayo M A, Yamaguchi N, Ito T. (2021) "One factor, many systems: the floral homeotic protein AGAMOUS and its epigenetic regulatory mechanisms" *Current Opinion in Plant Biology* 61:1020009
- Wang, Y., Kumaishi, K., Suzuki, T., Ichihashi, Y., Yamaguchi, N., Shirakawa, M., and Ito, T. (2020) "Morphological and Physiological Framework Underlying Plant Longevity in *Arabidopsis thaliana*" *Front. Plant Sci.*, 11:600726, doi.org/10.3389/fpls.2020.600726
- 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.* 7:437, doi: 10.3389/fevo.2019.00437.



図：サイトカイニンレポーター TCS::GFPの花発生中期（ステージ6）の発現。野生型（右）と比べて、sup突然変異体（左）では、サイトカイニンがメリステム領域で蓄積しており、花幹細胞の増殖を促進していることが示唆された。

## 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

細胞未分化性は、オルガネラや細胞形態が未熟で特定の機能に特化しておらず、継続的な細胞分裂が可能な状態で、動植物を問わず幹細胞にとって重要な性質です。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。これまでの研究で、KNOXとそのコファクターであるBLH転写因子が、イネ科植物の節間を生み出す介在分裂組織の維持にも重要であることが知られていました。そこで、イネの茎とKNOX・BLHの機能に焦点を当てた2つのテーマに取り組んでいます。

### 1. 節・節間のパターンニング機構

茎は葉・根・花と並び種子植物に普遍的な主要器官であり、葉が側生する節とその間の節間の繰り返し構造からなります。節では物質交換のため葉と茎の維管束が複雑に連絡する一方、節間は光を求めて伸長します。共に植物にとって不可欠な器官ですが、他の器官と比べて茎の発生機構の理解は遅れていました。本研究では、KNOX・BLH変異体における茎の発生異常を包括的に捉えるため、micro CTを用いて様々な組み合わせの変異体を観察しました。その結果、これらの変異体では単に節間が形成されないのではなく、節間の縮小/消失に伴って節が拡大することがわかりました (図左)。これらの異常の原因を分子レベルで解き明かすため、若い茎を部位別に分けたトランスクリプトーム解析を行ったところ、KNOX変異体では介在分裂組織で働く節間伸長に不可欠な遺伝子群の発現が消失するのに加え、節特異的な遺伝子の発現が節間へ広がっていることがわかりました。本研

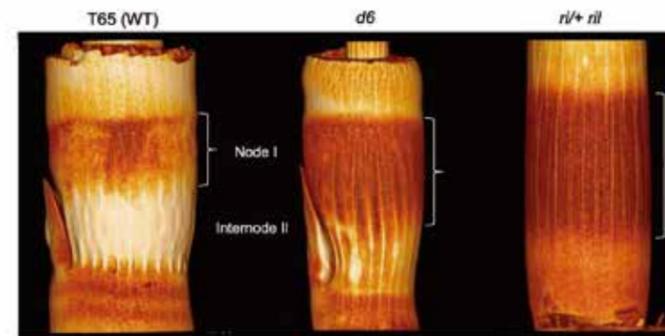
究ではさらに解析を進め、節形成に関わる遺伝子群を同定しました。今後は解析の詳細を詰め、節・節間のパターンニング機構の大枠を明らかにしたいと考えています。

### 2. 介在分裂組織の起源と幹細胞の存在の検証

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。その発生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。2つ目の課題として、この介在分裂組織の起源を明らかにするべく、湯湯処理によるGUSクローン誘導系をイネで確立しました。この実験系の確立にだいぶ時間がかかってしまいましたが、改良を重ねようやく再現性良くGUSクローンを誘導することができるようになりました (図右)。本実験系は薬剤処理ではなくお湯に漬けるだけでクローンを誘導できるため、イネのようにサイズの大きな植物でも簡単に実験できます。介在分裂組織の起源はまだ検証中ですが、他にも様々なイネの発生過程へ応用できるため、これまで明らかにされてこなかったイネの細胞系譜解析が進むことが期待されます。

### 【関連する研究成果論文リスト】

- Shimizu-Sato S, Tsuda K, Nosaka-Takahashi M, Suzuki T, Ono S, Ta K N, Yoshida Y, Nonomura K-I, and Sato Y\* "Agrobacterium-Mediated Genetic Transformation of Wild Oryza Species Using Immature Embryos" *RICE*, 13, 33 (2020).
- Kajiya-Kanegae H, Ohyanagi H, Ebata T, Tanizawa Y, Onogi A, Sawada Y, Yokota-Hirai M, Wang Z, Han B, Toyoda A, Fujiyama A, Iwata H, Tsuda K, Suzuki T, Nosaka-Takahashi M, Nonomura K-I, Nakamura Y, Kawamoto S, Kurata N, Sato Y\* "OryzaGenome2.1: Database of Diverse Genotypes in Wild Oryza Species" *RICE*, 14, 24 (2021).
- Sato Y, Tsuda K, Yamagata Y, Matsusaka H, Kajiya-Kanegae H, Yoshida Y, Agata A, Ta K N, Shimizu-Sato S, Suzuki T, Nosaka-Takahashi M, Kubo T, Kawamoto S, Nonomura K-I, Yasui H, Kumamaru T "Collection, preservation and distribution of Oryza genetic resources by the National Bioresource Project RICE (NBRP-RICE)" *Breeding Science*, 71, 291-298 (2021).



左：KNOX・BLH変異体の若い茎のmicroCT像  
右：イネの根端で誘導したGUSクローン

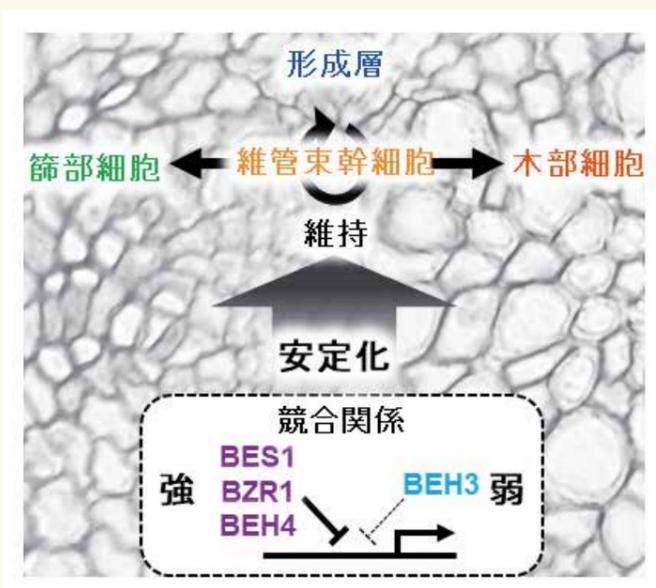
# Gene co-expression network analysis identifies BEH3 as a stabilizer of secondary vascular development in Arabidopsis

Tomoyuki Furuya, Masato Saito, Haruka Uchimura, Akiko Satake, Shohei Nosaki, Takuya Miyakawa, Shunji Shimadzu, Wataru Yamori, Masaru Tanokura, Hiroo Fukuda, Yuki Kondo (2021) *The Plant Cell* 33, 8, 2618-2636.

植物は動物と異なり、生涯にわたって幹細胞を維持することで発生・成長します。樹齢2000年を超す縄文杉などは、毎年年輪を刻みながら肥大成長をおこなっています。この肥大成長においては、形成層と呼ばれる分裂組織に存在する維管束幹細胞が永続的に維持される必要があります。これまでに維管束幹細胞の増殖や分化の制御に関わる遺伝子の研究は進んできましたが、それらを適切なバランスで安定化させ幹細胞を維持するしくみはわ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、BES/BZR転写因子群が幹細胞維持の負の制御因子として働くことを見出してきました。今回、遺伝子共発現ネットワーク解析からBES/BZR転写因子群の1つであるBEH3が新たに維管束幹細胞遺伝子群の中に見出され、遺伝学的解析によってBEH3は他のBES/BZR転写因子とは

逆のはたらきをもつことがわかりました。更に研究を進めていくと、BEH3は他のBES/BZR転写因子と同じDNAモチーフであるBRREモチーフに結合できる一方で、BEH3の転写抑制化活性は他のBES/BZR転写因子の活性より著しく弱いことがわかりました。その結果として、BEH3は他のBES/BZR転写因子の転写抑制化能を妨げる効果を持ち、維管束幹細胞に対して反対の作用をもたらすと考えられました。このBEH3と他のBES/BZR転写因子の間の競合的な関係性を数理モデルを用いたシミュレーションにより検証してみると、活性の弱いBEH3の存在が維管束幹細胞の制御を安定化させていることをサポートする結果が得られました。以上の結果から、BEH3と他のBES/BZR転写因子の間の競合的な関係性が維管束幹細胞の増殖や分化のバランスに重要であることが示され、幹細胞が永続的に維持されるしくみの一端を明らかにすることができました(図)。



図：活性の弱い転写因子が幹細胞を守っている！？  
活性の弱いBEH3が活性の強い他のBES/BZR転写因子と競合することで、維管束幹細胞の制御を安定化させている。

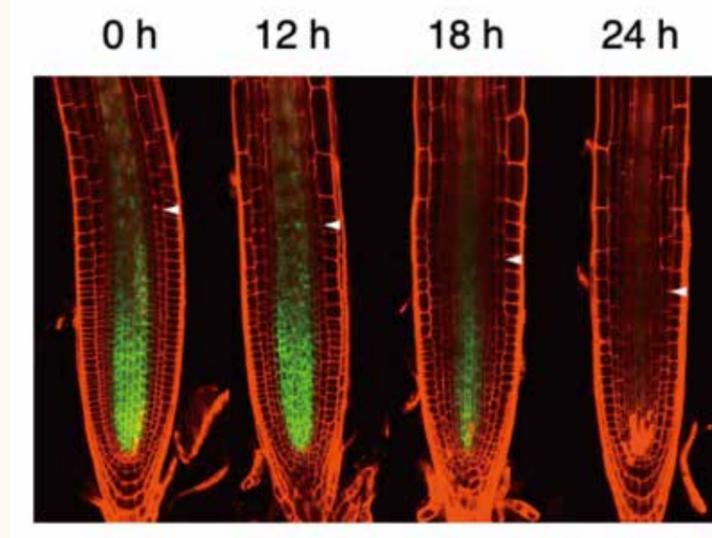
# Alterations in hormonal signals spatially coordinate distinct responses to DNA double-strand breaks in Arabidopsis roots

Naoki Takahashi, Soichi Inagaki, Kohei Nishimura, Hitoshi Sakakibara, Ioanna Antoniadis, Michal Karady, Karin Ljung, Masaaki Umeda (2021) *Science Advances* 7, eabg0993.

植物が一生を通じて成長を続けるためには、幹細胞を永続的に維持する必要があります。中でも幹細胞のゲノム恒常性を維持することは、幹細胞の質を保証する上で極めて重要です。植物のDNAは、通常のDNA複製過程で起こるエラーだけでなく、紫外線や環境ストレスによって生じる活性酸素、土壌中に含まれる重金属、病原菌感染などによっても損傷を受けます。これまでの研究で、シロイヌナズナにDNA損傷を与えると、茎頂や根端の幹細胞は細胞死を起こし、幹細胞以外の分裂細胞は細胞周期をG2期で停止させることが知られています。しかし、これらの異なる現象がどのように器官レベルで統御されているかは、これまで全くわかっていませんでした。

私達は榊原班と共同で、DNA損傷ストレスに曝したシロイヌナズナの根におけるサイトカイニンの量的変化について解析しまし

た。その結果、DNA二本鎖切断に反応して複数のサイトカイニン合成酵素遺伝子の発現が上がり、根端でサイトカイニンが高蓄積することを見出しました。また、サイトカイニンはオーキシン輸送に関わるPINの発現を低下させ、根の基部側から頂端側へのオーキシン輸送を阻害することで根端でのオーキシンレベルを低下させることもわかりました(図)。オーキシンスIGNALの低下は幹細胞死とG2期停止のどちらにも必要であったことから、ホルモンが空間的に異なる場所で起こる二つのDNA損傷応答反応を巧妙に統御していることが明らかとなりました。細胞死はDNA変異を娘細胞に伝えない手段として重要です。したがって、今後はオーキシンスIGNALの低下がどのように幹細胞死を誘導するのか、その分子メカニズムを解明することにより、幹細胞ゲノムの恒常性維持機構に迫れるものと期待されます。



図：DNA損傷に反応したPIN1の発現低下  
DNA二本鎖切断を引き起こすゼオシンでシロイヌナズナの根を処理した後、経時的にpPIN1:PIN1-GFPのGFPシグナルを観察した。PIN1の発現低下とともに分裂領域が縮小し、幹細胞死(赤く染まった部分)が起こっていることがわかる。根端でのオーキシンスIGNALの低下が幹細胞死を誘導することを示している。白矢尻は分裂組織の基部側の境界を示す。

# Copy number analyses of DNA repair genes reveal the role of poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) in tree longevity

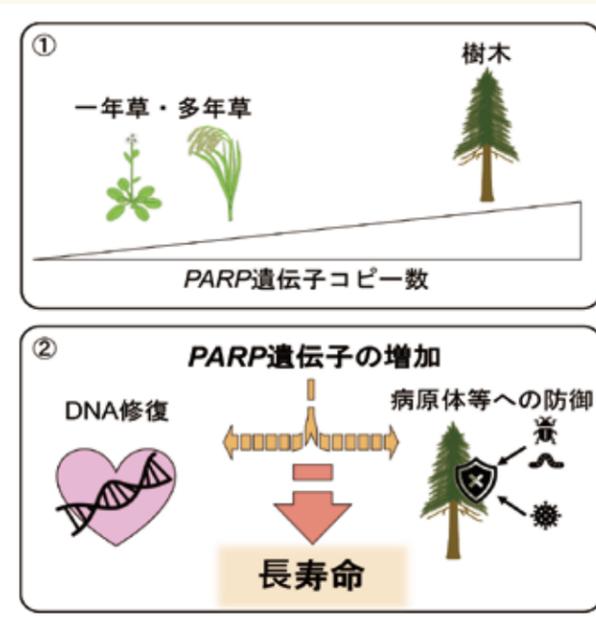
Yuta Aoyagi Blue, Junko Kusumi, Akiko Satake (2021) *iScience* 24, 102779.

生物の遺伝情報を担うDNAは紫外線などの外的要因、細胞の代謝の過程で発生する活性酸素などの内的要因により日常的に損傷を受けています。DNA損傷は突然変異を引き起こし、突然変異の蓄積は老化や細胞のがん化の原因になります。従って、長寿の生物が長期間生存するためには、日常的に生じるDNA損傷を修復し自身の遺伝情報を安定に維持し続ける必要があります。これまでの研究で、動物では長寿命の動物はDNA修復などの遺伝情報の維持に関わる遺伝子を多く持っていることが明らかになっていました。しかし植物では、樹木のような長寿命の植物がどのようなDNA修復遺伝子を多く持っているのかはわかっていませんでした。

本論文では、植物の遺伝子情報が収集されているデータベース

を利用して樹木・多年草・一年草を含む60種以上の植物において121種類のDNA修復に関わる遺伝子ファミリーに含まれるコピー数を網羅的に比較することで、樹木がポリADPリボースポリメラーゼ (PARP) のコピー数を多年草や一年草よりも多く持っていることを明らかにしました。

PARPは動物も植物も共通して保持している遺伝子で、DNA修復において重要な役割を持つだけでなく、病原体などに対する防御にも関わっていることが知られています。樹木におけるPARPコピー数の増加は、樹木がDNA損傷や病原体の感染から長期間身を守り、生存を維持するのに貢献していると考えられます。本研究の成果は、植物のDNA修復と寿命の進化の理解への足掛かりとなるものと期待されます。



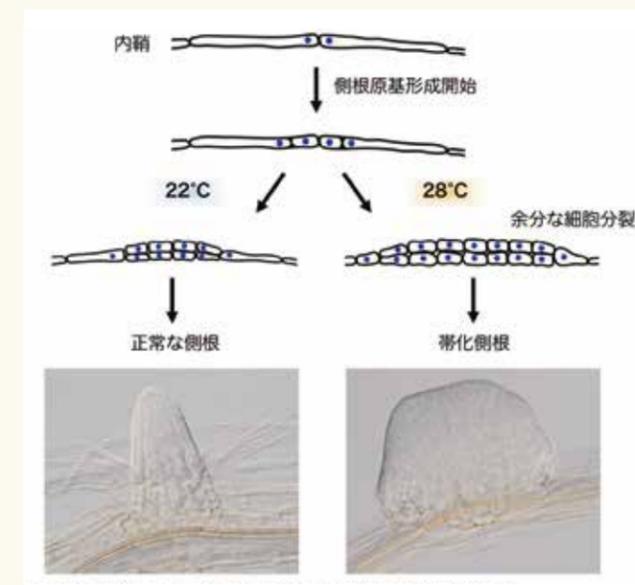
図：①樹木は一年草や多年草に比べて、PARP遺伝子のコピー数が多いことを明らかにしました。  
②樹木におけるPARP遺伝子の増加は、DNA修復や病原体に対する防御を通して樹木の長寿命に重要な影響を与えていると考えられます。

# Temperature-dependent fasciation mutants provide a link between mitochondrial RNA processing and lateral root morphogenesis

Kurataka Otsuka\*, Akihito Mamiya\*, Mineko Konishi, Mamoru Nozaki, Atsuko Kinoshita, Hiroaki Tamaki, Masaki Arita, Masato Saito, Kayoko Yamamoto, Takushi Hachiya, Ko Noguchi, Takashi Ueda, Yusuke Yagi, Takehito Kobayashi, Takahiro Nakamura, Yasushi Sato, Takashi Hirayama, Munetaka Sugiyama (2021) *eLife* 10, e61611. (\*These authors contributed equally to this work)

植物の器官新生は、幹細胞および幹細胞ニッチの生成による頂端分裂組織の新たな構築を伴います。器官新生は局所的な細胞分裂の活性化に始まり、それに続く細胞分裂の精妙な調節によって適度な大きさと正常な形をもつ原基が発達して、その中に適切な数の幹細胞とそれを支える幹細胞ニッチを有する頂端分裂組織が確立します。幹細胞・幹細胞ニッチの場をつくるという意味で、器官新生初期の細胞分裂の調節は、幹細胞の観点からもきわめて重要です。しかし、この細胞分裂調節の様相と要因は、まだ十分に解明されていません。私たちは、この問題に関し、温度依存的帯化を示すシロイヌナズナの3つの変異体 *root redifferentiation defective 1 (rrd1)*、*rrd2*、*root initiation defective 4 (rid4)* を用いた解析を行い、ミトコンドリアのmRNAのプロセッシングが側根原基形成に際して細胞分裂を制限する上で重要な役割を果たしていることを見出しました。これらの変異体は高温条件で異常に横幅の広がった、すなわち帯化した側根

を生じることを共通の特徴としますが、まず細胞学的解析により、それが原基形成開始直後に細胞分裂が余分に起きるためであることがわかりました。また、原因遺伝子を同定し、遺伝子産物の局在や機能を解析したところ、いずれもミトコンドリアのmRNAプロセッシング因子 (RRD1はポリA分解、RRD2とRID4はmRNA編集) であることが判明しました。さらなる解析の結果、ミトコンドリアmRNAプロセッシングの不全が電子伝達系の不具合を引き起こして活性酸素を発生させ、この活性酸素が側根原基の細胞分裂の調節を緩めて側根の帯化をもたらすことが示唆されました。本研究で得られた知見は、植物の器官形成におけるミトコンドリアの活性の生理的意義について、全く新しい手掛かりを提供するものであり、今後この切り口からの研究により、器官形成時の細胞分裂制御の理解が進むことが期待されます。(\*この論文は大塚蔵嵩氏と間宮章仁氏がコファーストオーザーです。)



図：高温条件で側根が帯化するシロイヌナズナの温度感受性突然変異体 *rid4-2* の側根。写真は研究に用いた変異体の一つ *rid4-2* の側根。(写真撮影・作図：間宮章仁)

# WIND transcription factors orchestrate wound-induced callus formation, vascular reconnection and defense response in Arabidopsis

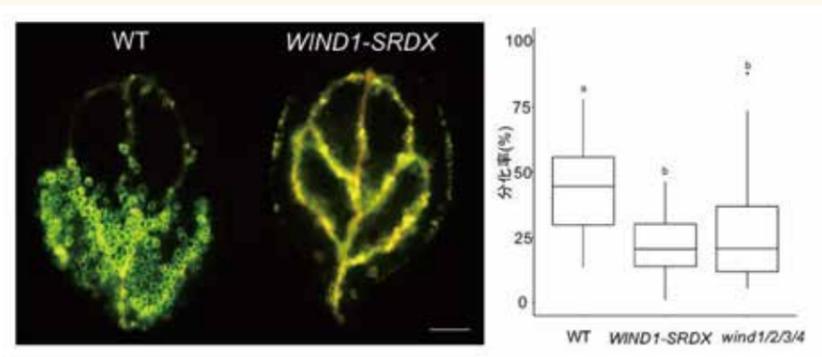
Akira Iwase, Yuki Kondo, Anuphon Laohavisit, Arika Takebayashi, Momoko Ikeuchi, Keita Matsuoka, Masashi Asahina, Nobutaka Mitsuda, Ken Shirasu, Hiroo Fukuda, Keiko Sugimoto (2021) *New Phytologist* 232, 734-752.

植物は、傷口をカルスと呼ばれる細胞塊で塞いだり、カルスの中で新しく幹細胞を作り直して組織や器官を再生させたりします。また、傷口やカルスの細胞では病原菌の侵入や繁殖を抑えるのに効果的な防御物質が作られることも知られています。今回、私たちは、シロイヌナズナの転写因子WIND1やそのホモログ(WIND2~4、以下WIND転写因子群)が、傷口のカルス化や組織の再生のみならず、道管の再形成や病原菌への抵抗性獲得も制御し、傷ストレス後の様々な生理反応を統合的に制御する因子であることを明らかにしました。

私たちは、まずWIND1遺伝子の発現を培地に添加する化合物で誘導できるシロイヌナズナ植物体を用いて、WIND1遺伝子を発現誘導してから24時間以内に発現上昇する遺伝子(WIND1下流遺伝子群)を網羅的かつ経時的に調べました。予想通り、これまで報告されている再生や幹細胞新生に関わる遺伝子91個のうち30個の遺伝子発現が促進していました。これらの中にはカルス形成や組織の再生に関わるERF115、LBD18、PLT5、ESR1、RAP2.6L、幹細胞の維持や再形成に重要なWUSやWOX5、体細胞胚形成に関わるLEC2などの転写因子の遺伝子が含まれていました。

WIND1下流遺伝子群にはVND6など管状要素形成を促進する転写因子の遺伝子が含まれていたことから、WIND1による道管再形成への影響を調べました。種々行った実験のうち、本学術領域内の共同研究として、近藤侑貴博士とVISUAL法による管状要素形成の評価実験を、また池内桃子博士と接ぎ木による道管再形成の評価実験を行いました(図)。これらの解析からWIND転写因子群はカルスの中で道管の再形成にも機能していることが明らかになりました。同様に、WIND転写因子群と病害応答の関係を調べたところ、WIND転写因子群の働きを抑えた植物体では野生株に比べて病原菌の高い増殖が見られたことから、WIND転写因子群が病原菌の増殖を抑える働きを持つことが示唆されました。

今後、WIND転写因子群が傷口でどのように幹細胞新生、道管形成、病害応答を制御しているのか、より詳細な分子メカニズムを明らかにしていきます。また、実用作物にWIND転写因子群の機能を付与することで、組織培養技術を用いた増産や品種改良、接木の効率化や植物免疫の活性化など、植物による持続的な食料・バイオマス生産に貢献する技術開発を目指します。



図：転写因子WINDの機能抑制・欠損株は管状要素の形成を抑制する  
(左)VISUAL法を用いて、野生株(WT)とWIND1の機能抑制植物体(WIND1-SRDX)の葉肉細胞を維管束細胞に分化転換した。WIND1-SRDXでは異所的な管状要素(緑色)がWTに比べて少ないことが分かる。スケールバーは0.5 mm。(右) グラフは子葉全体の面積における蛍光面積の割合で概算した管状要素への分化率を示している。WIND1-SRDXや機能欠損変異体(wind1/2/3/4)では、野生株(WT)に比べて管状要素形成が抑えられることが分かった。

## 2021年度アウトリーチ活動

### outreach activity

日付	活動名	対象	概要	場所	活動者
8月2日～4日	SSH 高校生ラボステイ	高校生	西大和学園高校2年生2名と奈良高校1年生1名が植物ホルモンとクロマチン構造に関する研究を体験。	奈良先端科学技術大学院大学	梅田 正明
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3名が花卉のサイズ制御に関する研究を体験し、12月11日に研究発表会を行った。	奈良先端科学技術大学院大学	和田 セタ子 伊藤 寿朗
8月11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	木羽 隆敏 榎原 均
8月23日～26日	大学生の体験入学	大学生	名古屋市立大学、奈良女子大学から1名づつの体験入学生を受け入れ、マウスES細胞を使った実習を実施。	基礎生物学研究所	坪内 知美 倉島 公憲
8月30日	高校生物情報交換会	高校教員	兵庫県内の高校の生物教員に「植物の維管束研究最前線」と題した講演と、観察方法や実験手法についての討論。	オンライン	近藤 侑貴
10月1日～2022年1月20日	高専生インターン	高等専門学校生徒	沼津工業高等専門学校の生徒1名がイネの分子生物学・遺伝学実験を体験。	国立遺伝学研究所	佐藤 豊
10月9日	理化学研究所横浜キャンパス 一般公開	一般	植物科学研究を支える顕微鏡や質量分析技術に関するクイズをウェブサイト Ver. 2 で公開。	オンライン	豊岡 公徳 小嶋 美紀子
11月1日	三重県鳥羽市発行「広報とば」協力	一般	「みなさんご存知でしたか?名古屋大学菅島臨海実験所のこと」の制作に協力。		五島 剛太
11月20日	奈良先端科学技術大学院大学オープンキャンパス	一般	「植物はどのように成長しているの?」と題し、植物の器官成長のしくみについて最新の研究成果を紹介。	奈良先端科学技術大学院大学	梅田 正明
11月22日	第7回 熊本大学IROASTシンポジウム	一般	「ウェルビーイング社会の構築 ～人に寄り添う技術の実現～」をテーマに、IROASTの研究成果を紹介。	熊本大学(オンラインとのハイブリッド開催)	相田 光宏
12月21日	ニュートン別冊「ゼロからわかる人体と細胞改訂第2版」協力	一般	「分身をつくる「細胞分裂」(別冊Newton 2022年3月刊行予定)の制作に協力。		五島 剛太
2022年1月9日	企画展記念講演会 こけティッシュ・プレミアムトーク	小学生	スペースモス宇宙実験などコケ植物を用いた成長や生理実験の意義や期待される成果を紹介。	茨城県自然博物館	藤田 知道
1月19日	高校生向けセミナー	高校生	栄光学園の高校生に造林を例にカーボンニュートラルを紹介。樹木成長促進と二酸化炭素吸収量増大の関係を説明。植物科学の面白さを伝えた。	栄光学園中学高等学校	梅田 正明
1月28日	イタズラが招いた植物科学への道	小学生	「ワクワク無限大!」職業講演会において、植物の再生能力とその研究内容、科学者の日常などについて講演。	千葉県我孫子市立並木小学校	岩瀬 哲
3月11日	個体を再生する植物の力を科学する	学生、一般	理研よこはまサイエンスカフェにおいて、傷ストレスによって幹細胞を新生させ個体再生する植物の能力を紹介。	オンライン	岩瀬 哲

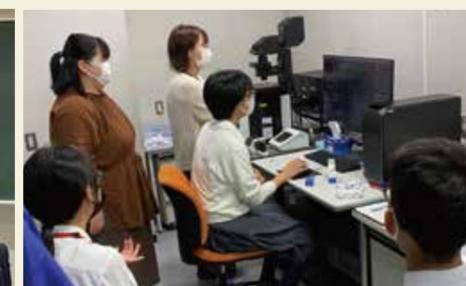
2021年度は、予定のものも含めて15件のアウトリーチ活動がありました。今年度も新型コロナウイルス感染の波が度々訪れたため、昨年度と同様の活動数となりました。このような不安定な状況の中においても、さまざまな形で「科学の面白さ、重要さ」を伝える活動をしていただいた班員の皆さまに心から感謝します。



「広報とば」での研究紹介(五島班)



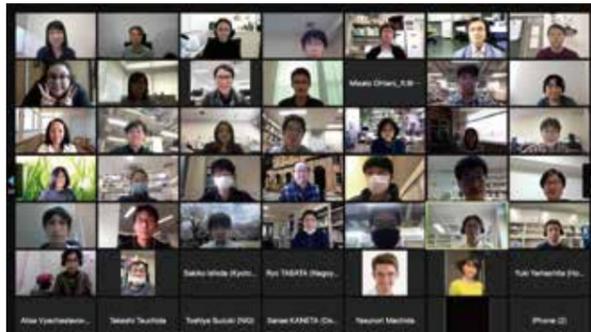
高校生向けセミナー(梅田班)



奈良先端大でのSSH高校生ラボステイの様子(梅田班)

第5回領域会議 (令和3年3月25~26日)

第5回領域会議は2021年3月25-26日にオンラインで開催しました。計画・公募班員が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。ランチブレイクや懇親会はRemoで交流を深めました。懇親会では、チャット機能により、多くの参加者との活発な議論が可能になり、班員には好評でした。若手研究者も気楽に参加することができ、登録参加者は100名以上になりました。オンラインでの研究交流にも皆さんだいぶ慣れてきた様で、大変充実した領域会議となりました。



国際シンポジウムを開催しました (令和3年4月26日~28日)

令和3年4月26日~28日に、国際シンポジウム「Secrets of stem cells underlying longevity and persistent growth in plants」をオンラインで開催いたしました。参加者は、14か国から293名でした。これほど多数の参加者があったのはオンラインならではの。招待講演19題(海外から17題)、若手口頭発表14題と多くの発表がありました。

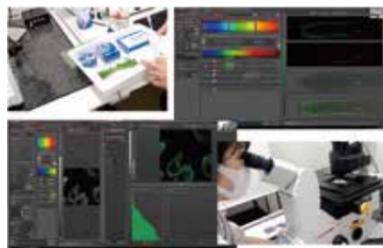
シンポジウムでは植物と動物の幹細胞研究者による最新の知見が発表され、幹細胞システムに関して活発な意見交換が行われました。特に各セッションの後に用意された「Meet the speaker」セッションでは集中した研究討議が活発に行われていました。若手に進行を任せるといった試みも成功だったと思います。

オンラインならではの機器関係のハプニングもありましたが、3日間を通して知的刺激に溢れたシンポジウムになりました。



共焦点レーザー顕微鏡オンライン技術講習会 (令和3年8月2~3日)

2021年8月2~3日に理化学研究所 横浜キャンパスへ本領域で導入した共焦点レーザー顕微鏡Leica TSC SP8のオンライン技術講習会を行いました。3密を避けるために、共焦点のPCにZoomをインストールし、画面共有で共焦点のモニターを、Webカメラで顕微鏡操作を映しました。ライカマイクロシステムのスペシャリスト 長利氏より基本操作と蛍光寿命イメージングなどの応用技術を、蛍光タンパク質発現した植物試料を使って学びました。理研や名大などの学生、ポスドク、教員など8名が受講し、操作画面を間近で見ながら、基礎から高度なテクニックまで多くの知識を習得しました。



第5回若手の会を開催しました (令和3年11月24日~25日)

11月24日(水)と25日(木)に、オンライン (Zoom) にて「第5回若手の会」を開催しました。新型コロナウイルス感染拡大の影響を受け、昨年度に引き続きオンライン開催となりましたが、今年度は学生49名を含む総勢80名を超える方々にご参加をいただきました。中でも学部生・大学院生が発表の大部分を占め、ポスターと口頭を併用した発表形式にて活発な議論が繰り広げられました。また若手学生らによる交流会企画、先生方による特別対談も非常に盛り上がり、オンライン開催の良さを活かした大変実りある会となりました。



特別対談の様子 (Zoomイマーシブビュー)

第7回幹細胞研究会を開催しました (令和3年12月10日)

12月10日(金)に第7回幹細胞研究会をオンライン開催しました。180名を超える方に参加登録いただき、常時100名を超える方が視聴をされるという大盛況でした。ご登壇いただいた先生方、参加して下さった皆さまに改めて感謝申し上げます。今回のテーマである「幹細胞制御に関わるクロマチンおよびDNA高次構造体」を中心に、植物と動物の幹細胞の特徴と性質の解明に迫る最新の成果が発表され、予定していた時間を超える熱い議論や意見交換が交わされました。



植物学会のシンポジウム開催報告 (令和3年9月19日)

2021年9月19日に、日本植物学会第85回大会において、シンポジウム「Inflorescence development and diversity in grasses」(オーガナイザー:津田勝利(遺伝研)、佐久間俊(鳥取大)、田中若奈(広島大))を開催しました。

国内5名の演者に加え、海外から2名の演者が参加し、イネ科植物の花序の発生に見られる共通原理・多様性に関する最近の研究を報告しました。英語開催でしたが、聴衆の方々からも多くの質問をいただき、活発な議論が交わされました。



日本分子生物学会年會にてワークショップを開催しました (令和3年12月1日)

オンラインとオンラインのハイブリッドの形式で開催された日本分子生物学会年會にて、ワークショップ「細胞間コミュニケーションのあり方から問い直す動物と植物の多細胞体制」を開催しました。植物から3演題、動物から4演題、更に内容もショートレンジからロングレンジの細胞間コミュニケーションと幅広い演題が集まり、オンライン参加者も含めた活発な議論がおこなわれました。2年ぶりの対面ということでしたが、やや「密」を心配するほど立ち見が出て大変盛り上がりました。



グループミーティング

本新学術領域研究では領域内の研究交流および共同研究を活発にすることを目的に、領域内の少数のグループで若手を交えた研究討議のためのグループミーティングを開催しています。2021年度はオンラインを中心に14件のミーティングが開催されました。

## A02班・鳥居啓子博士が2021年度朝日賞をご受賞されました

本新学術領域のA02班・鳥居啓子博士が2021年度朝日賞をご受賞されました。「朝日賞」は学術、芸術などの分野で傑出した業績をあげ、わが国の文化、社会の発展、向上に多大の貢献をされた個人または団体に贈るために、朝日新聞社が1929年に創設。現在は朝日新聞文化財団が事業を引き継いでいます。

本領域にとって大変喜ばしいニュースであるとともに、今後益々の研究のご発展をお祈り申し上げます。  
この度のご受賞、誠にありがとうございます。



## A02班・梅田正明博士が 日本植物バイオテクノロジー学会学術賞をご受賞されました

本新学術領域のA02班・梅田正明博士が日本植物バイオテクノロジー学会学術賞をご受賞されました。本領域にとって大変喜ばしいニュースであるとともに、今後益々の研究のご発展をお祈り申し上げます。

この度のご受賞、誠にありがとうございます。



### 編集後記

このニュースレターの発行もvol5となり梅田新学術領域研究もまもなく終了です。植物幹細胞の基盤原理解明に向けた研究に携わったこの5年間は私にはあっという間の時間でした。うまく考えがまとまった点、さらにもっと掘り下げてみたくなる点もありました。新学術領域研究としての活動は今年度までですが、植物幹細胞研究はこのグループの皆さんとの交流も含めて続けていけると良いなと思っています。交流という点では、感染の広がり、新学術領域研究の後半で人的交流が停滞することが懸念されましたが、オンラインツールは思いのほか便利で、あっという間に定着しました。先の見通しが効かない時勢だからこそ、知恵や新しい技術が生まれ、その社会受容が促されるのだらうと思います。日々の暮らしや仕事でも、制約や躊躇を感じることもありますが、そこから生まれる変化を期待し、またそれを楽しみたいと思います。どうぞ皆様お体に気をつけてお過ごしください。

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」

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」ニュースレター 第5号

2022年3月 発行

編集人 佐藤 豊

発行人 梅田 正明

発行所 大学共同利用機関法人 情報システム研究機構  
国立遺伝学研究所 植物遺伝研究室

佐藤 豊 TEL : 055-981-6808

E-mail : yusato@nig.ac.jp

FAX : 055-981-6879

領域ホームページ

<http://www.plant-stem-cells.jp/>