

【領域番号】 5 2 8

【領域略称名】 植物メリステム

【領域代表者（所属）】 町田泰則（名古屋大学大学院・理学研究科・特任教授）

1. 研究領域の設定目的：研究期間内に何をどこまで明らかにしようとしたか

本特定領域研究では、植物発生の根幹をなすメリステム（茎頂と根の先端にある幹細胞の集団）の形成・維持と機能転換及びメリステムからの器官形成を支配している制御系を解明するために、（発足当時）新たに見出されていた情報分子や制御分子を基軸として研究した。本提案の基礎となる新奇分子は、特定領域研究「植物の軸と情報」（平成 14 年から平成 18 年）で発見されたものであり、これらの発見は国際的にも高い評価を受けており、このような研究を途切れることなく遂行し、より高次の制御系の解明を、我が国で発展させることが急務であると考え、目標を絞り込み、新しい研究領域を提案することにした。本提案は、公募要領 II 2 (2) ① (イ) の (b) 「研究の発展段階の観点から見て成長期にあり、研究の**一層の発展が期待される領域**」及び (d) 「その領域の研究の発展が**他の領域の研究の発展に大きな波及効果をもたらす等、学術研究における先導的または基盤的意義を有する研究領域**」に該当することから、特定領域研究にふさわしいと判断した。

本特定領域研究のより具体的な目的は、メリステム（幹細胞の集団）の形成・維持・相転換と器官形成を支配している因子の機能を調べ、それらの関連性を明らかにし、メリステムや器官の形成を統合的に制御している情報の制御系（統御系と呼ぶ）を解明することである。特に、この分野の研究を国際的なフロントに押し上げる必要性から、次のような **5 つの研究を重点的**に行い、植物発生に関わる統御系の**分子機構の解明を目指した**。(1) 茎頂と根端メリステムの形成と維持に関わる小分子 RNA やペプチド性リガンドなどの新奇因子の同定とそれらの機能を調節する統御系を明らかにする。(2) メリステムからの葉や組織の発生・分化を司る統御系を、小分子 RNA やペプチド性リガンドの機能として、あるいはクロマチンの構造変換、DNA 修飾などを基軸として研究する。(3) フロリゲンなどによる花成誘導の仕組み、つまりメリステムの相転換を支配している情報の統御系を研究する。(4) 植物ホルモンが、(1) から (3) に述べた過程をどのように調節しているかを研究する。(5) これらの研究を推進するために、先端的なイメージング技術の導入、全ゲノム配列を対象として転写領域を探索するタイリング・アレイ解析の導入を行い、新たな情報の統御系を探る。

2. その達成度

本特定領域研究の成果を俯瞰すると、多数の新奇因子が同定され、既知の因子を含めて植物発生を統御する新たな分子機構が解明されたと言える。従って、**全体として目標は十分達成され、いくつかの成果は目標を越えるレベルに到達したと言える（本節後半を参照）**。以上の成果は、6 年間で 801 報の英文の論文として公表された（項目 9）。最終年度近くには出版された論文の質的な評価は、まだ定まっていないが、約 450 報の論文がインパクトファクターが 4 を越える著名な専門誌に掲載され（項目 8）、その中には 2007 年から現在までの被引用回数が 100 を越えるものが 7 報、20 から 99 の論文が 97 報含まれている（項目 10）ことから、**我々の成果は世界の植物発生生物学の発展に大きく貢献したと判断される**。また、本領域研究では、領域内全体で 150 件を越える共同研究が行われ、これまでに 189 報の共著論文が出版された。このように、総論文数の 1/4 弱が共著論文ということは、研究の連携に成功したと言える。従って、本特定領域研究を推進することにより、**我が国におけるこの分野は、研究領域としても大きく発展してきたと言える**。さらに、関連分野に対する波及効果についても、本特定領域研究を推進している間に、公募班員が参

加することにより3つの新学術研究領域が立ち上げられたことから、**本特定領域研究が新しい研究領域の発展に先導的な役割を果たしてきたと言える。3つの内の1つにおいては、公募班員が領域代表となった。**

以下に、具体的な研究の達成度について紹介する。上記(3)のフロリゲンに関する課題において、大きな成果が得られた。葉で作られたフロリゲンはタンパク質として茎頂へ輸送され(荒木: *Plant Cell Physiol.* 2008, *Plant J.* 2013)、そこで14-3-3タンパク質と転写因子との三量体(フロリゲン活性化複合体)を形成し、花芽形成を促進するという分子的なメカニズムが解明された(島本: *Nature* 2011a)。これは、最大の成果とすることができる。さらに、フロリゲンと相互作用する転写因子が、リン酸化されることが証明され、キナーゼも同定されつつある。これらは、イネ(島本)とシロイヌナズナ(荒木)の研究を総合的に判断して導かれる帰結であるが、島本によるフロリゲン活性化複合体のX線結晶解析の結果が鍵となる結論を導いた。これに加えて、フロリゲンのあらたな機能が明らかになった(島本: *Nature* 2011b; 荒木: *Plant Cell* 2013 (in brief))。全体として、**これらは想定を越える新しい成果と言える。**

上記の5つの重点のうち、(1)の課題においては、根端メリステムを規定している新たなペプチド性因子が発見され、しかもペプチドの硫酸化修飾がその活性に大きく寄与していることが発見された(松林: *Science* など)。一方、茎頂メリステムの維持に関わっているCLV3ペプチドも、アラビノシル化修飾が寄与していることが見いだされた(松林: *Nat Chem Biol* など)。また、維管束細胞の分化と増殖のシグナル伝達に関連する多くの因子(TDIF, ペプチド TDR 受容体, WOX4, BIN2, ブラシノステロイド)が同定されるとともに、それらの因子の相互作用を明らかにすることに成功した(福田: *Science* など)。これらは、**当初の想定を越える新しい成果といえる。**さらに、メリステムの維持に関しては、ERECTAファミリーの受容体群が、茎頂メリステムでのサイトカニンによる幹細胞制御に機能していること(田坂: *Development* など)、幹細胞を含み茎形成の主要な組織である形成層の活性制御の主要調節因子がサイトカニンであることを明らかにした(福田: *Proc Natl Acad Sci USA* など)。また、オーキシンによる側根メリステムの形成に関しては、転写因子であるARFs → ASLファミリーという経路(転写因子モジュール)を発見し、この経路が、側根原基形成に先立って予定領域の細胞内で核の移動と、その後不等分裂を誘導することを明らかにした【深城: *Development* (in this issue)など】。分化全能性に関わる遺伝子レベルの研究が行われ、snRNAsやrRNAの代謝に関わる因子が、重要な機能を果たしていることがわかった(杉山)。これらは、**目標を十分達成した成果といえる。**

重点課題(2)である器官分化の研究においては、葉の表裏を決める主要な因子であるAS1-AS2複合体がARF3/ETTの発現をユニークな分子機構により制御(二重に抑制)していること、ARF3のメチル化を正に制御していることを明らかにした。さらに、ここでもARFs → ASLファミリーというモジュールが機能していることを見いだした【町田: *Development* (in this issue)など】。孔辺細胞(気孔)形成の過程は、メリステマティックな細胞から最終分化細胞が誕生するモデル系である。この過程に、気孔前駆細胞の配置を決めるEPF1ペプチド、表皮の増殖の負のフィードバック因子EPF2ペプチド、気孔数の制御因子stomagenペプチドを見いだした。EPF1, RPF2はMAPキナーゼを活性化することによりシグナルを伝える事を見いだした(柿本: *Gene Dev* など)。ゲノムDNAの低メチル化突然変異株 *ddm1* 背景で生じる種々の遺伝的変異を解析し、*BONSAI* 遺伝子の発現が、DNAやヒストンのメチル化で制御され、器官発生に大きな影響を与えることを見つけた。これを用いた研究により、メリステムからの器官発生は、DNAのメチル化を基軸としたゲノムの全体的な修飾状態により大きく規定されながらも、遺伝子ごとに独立している制御が存在する可能性もあることがわかった(角谷: *Nature* など)。これらは、**目標を十分達成した成果といえる。**さらに、この課題では、いくつかの先駆的な知見が得られた。例えば、40年以上前から、葉の表側の分化は、茎頂メリステムの中央から由来する何らかの因子が誘導すると言われているが、その候補として、コハク酸セミアルデヒドや色素体からの何らかのシグナルが提唱された。(岡田: *PLoS Genet* など)。また、葉形成の後

期には、細胞分裂の活性低下によって引き起こされる異常な細胞肥大(補償作用)が誘導されるが、この低下は細胞間シグナル伝達の制御下にあること、AN 遺伝子産物が TGN に局在して葉の横幅を制御すること、ROT ペプチドが側生器官の長軸方向の位置情報に関わっていること、AN3 が葉の原基における細胞分裂活性のみならず葉の向背軸決定にも関わっていることを明らかにした(塚谷: *Development* など)。これらは、**新しい統御系の解明の基礎となる成果といえる。**

(4) の重点課題のオーキシンに関しては、オーキシン応答性遺伝子 *MSG2/IAA19* の生理的意義を研究し、同遺伝子が屈曲の抑制因子であることを示した。また、同遺伝子は概日リズムによる周期的な運動に関与していることが分かった。さらに、重力刺激認識過程で機能していると考えられる遺伝子として、*LAZY1* を同定し、さらに、同因子と遺伝学的相互作用因子として *ARG1* と二次細胞壁特異的セルロース合成酵素遺伝子を同定した。これにより、二次細胞壁合成が茎の屈地性や成長方向制御に関与していることが初めてわかった(山本: *Plant Phys* など)。これらは、**オーキシン応答の新しい統御系の解明の基礎となる成果といえる。** サイトカイニンに関しては、すでに上記の重点(1)の段落で述べた。

(5) の重点課題については、6章の支援班の項で記載するように、多くの領域内班員が支援班を利用し、成果を挙げた。この他、福田と町田は、種々のアレー解析により、候補遺伝子の絞り込みに成功して、研究を発展させることができた。町田は、遺伝子発現解析にバイオインフォマティクスの専門家を分担者として選び、重要な遺伝子を突き止めた。これらは目標達成に大きく貢献した。

公募研究としては、次のようなものが挙げられる。中島は、根の組織分化において miRNA の細胞間移動を証明し(*Curr Biol* など)、上田は、植物には固有の細胞内交通系が存在することを初めて示し、器官発生との関連性を提唱した(*Nat Cell Biol* など)。**目標を越える成果達成に大きく貢献した。** 平野は、イネのメリステム機能や側生器官の発生・分化に関わる種々の新奇な遺伝子を同定し、シロイヌナズナナズナとは異なる仕組みを提唱した(*Plant Cell* など)。石黒は、ジャスモン酸が、花器官の成熟成長に関わっていること、その下流では Class 1 *KNOX* 遺伝子が機能しており、葉の成長と類似している経路が存在することを示し、発生過程で、経路のクロストークがあることを報告した(*Plant Cell Physiol* など)。田中は、オーキシン細胞外排出因子 PIN1 の細胞内局在を介する因子を同定し、オーキシンの流れる方向を規定している仕組みの理解に貢献した(*PLoS Genet* など)。これらは、**領域研究の目標を十分達成することに貢献した。**

3. 論文として公表された公募研究班との連携の例

1. 町田は、チュービンゲン大学の G.ユルゲンス教授と、RUNKEL キナーゼ様タンパク質の細胞質分裂における機能について共同研究した。ここに、さらに橋本(公募)が加わり、RUNKEL が微小管結合タンパク質であることを証明した(Krupnova et al. 2009 *Curr Biol*)。さらに、町田は、渡邊(公募)と共同研究し、AS1-AS2 複合体は、小分子 RNA である tasiR-ARF による *ARF3/ETT* 遺伝子の発現抑制に関わっていることを明らかにし、共著論文を発表した(Iwasaki et al. 2013 *Development*)。さらに、松永(公募)、田中(公募)、上田(公募)、石黒(公募)、伊藤正樹(公募)、川口(公募)、塚谷(計画)、岡田(計画)と共著論文を、*Plant Cell* などに発表した。
2. 田坂と深城(計画)は、多くの共同研究を行い、多数の共著論文を発表した。側根形成初期過程で *ARF/IAA* が機能する時に、*MAB2* が転写調節因子として機能すること、側根形成初期に *PUCHI* が負の制御因子として機能すること(Hirota et al. 2007 *Plant Cell*)を報告した。また、福田と共同研究し、形成層の維持において、*ERECTA* ファミリー受容体が *TDR* (受容体)とは独立に作用することを見いだした。これ以外に、柿本、杉山(計画)、佐藤忍(公募)(Asahina et al. 2011 *Proc Natl Acad Sci USA*)と相田(公募)(Karim et al. 2009 *Plant Cell*)と重要な共著論文を発表した。
3. 塚谷は、福田(計画)、出村(公募)と共同研究して、*AN3* 遺伝子の下流ではたらく遺伝子群の同定の

ため、マイクロアレイ解析をお願いし、複数の有力候補を見いだした (Horiguchi et al. 2011 *Plant Cell Physiol*)。また、イネの葯の形成に際しての背腹軸の決定機構の解明において、平野と共同研究し、葉と異なり葯においては背腹軸が一端消失した後に再構成されることを見いだした。この他、町田、岡田、田坂、福田、平野 (公募)、杉本 (公募)、上田、溝口 (公募) と多くの共同研究をした。

4. 岡田は、富永 (公募) と共同研究し、CPL3 遺伝子が、トリコーム形成のみならず、エンド・リデュープリケーションや花形成に関与していることを報告した (Tominaga et al. 2008 *Development*)。その他、町田、塚谷、石黒、川口、佐藤豊 (公募)、中島 (公募) と共著論文を発表した。
5. 中村は、石黒と多くの共同研究をした。また、町田、山本 (計画) とともに共同して、ARF6 ARF8 がジャスモン酸合成依存的に、かつ Class 1 KNOXs 遺伝子依存的に花成熟を制御していることを報告した (Tabata et al. 2010 *Plant Cell Physiol*)。この他、町田、伊藤正樹とも共著論文を発表してきた。
6. 福田は、シグナル伝達のリガンドと受容体のペアに関する共同研究を松林 (計画) と行い、めざましい成果をあげ、共著論文を発表した。 (Hirakawa et al. 2008 *Proc Natl Acad Sci USA*)。また、出村 (公募) とは木部分化に関連する転写因子に関する多く共同研究を行い (Yamaguchi et al. 2010 *Plant Cell*)、共著論文を発表した。この他、経塚 (公募; 班友)、澤 (公募)、伊藤正樹、上田、川口、塚谷、柿本とも共著論文を発表した。
7. 杉山は、町田、塚谷、尾之内と共同研究し、リボソーム関連因子の機能不全が引き起こす発生・再生の異常が、葉の形態形成においても、共通に見られること、これらの表現型に特定の NAC 型転写因子が関わっていることを示した。さらに、この転写因子の遺伝子の発現に uORF が関わっている可能性に着目した解析も進めている。
8. 荒木は、フロリゲン FT 遺伝子について、阿部 (公募) と共同研究した。田坂 (計画) も加った共同研究により FT 遺伝子の発現制御におけるメディエーター複合体の役割を明らかにするとともに、花成制御以外のフロリゲン機能 (腋性メリステム形成における機能) を発見し、共著論文を発表した (Imura et al. 2012 *Plant Cell Physiol* および Hiraoka et al. 2013 *Plant Cell Physiol*)。

上記に記した成果は、189 報の共著論文の一部であるが、これらは、領域研究の推進に大きく貢献した。