

維管束幹細胞の発生運命制御機構の解明

Studies on regulation of developmental fates of
plant vascular stem cells

福田 裕穂 (FUKUDA HIROO)

東京大学・大学院理学系研究科・教授



研究の概要

本研究は、植物成長の鍵となる植物メリステムの組織構築機構を、維管束幹細胞の発生運命制御の解明を通して明らかにすることにある。本研究では、この維管束幹細胞の発生運命の制御について、維管束幹細胞の維持機構、維管束幹細胞の成立の分子機構、維管束幹細胞からの分化機構の3つに分けて解析した。

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・植物分子生物・生理学

キーワード：成長生理、植物、発生分化

1. 研究開始当初の背景

植物における組織構築は茎頂、根端、維管束メリステムにより行われる。メリステム内では固有の幹細胞が分裂し、自らを維持しながら、同時に他の細胞へと分化する。この幹細胞における増殖と分化のバランスがメリステムにおける無限の組織構築を支えているが、そのしくみは明らかになっていなかった。そうした中で、私たちは、TDIFペプチド・TDR受容体キナーゼのシグナルが、維管束幹細胞の分裂を促進するとともに、そこからの木部分化を阻害するという2つのプロセスを同時に制御していることを明らかにした。

2. 研究の目的

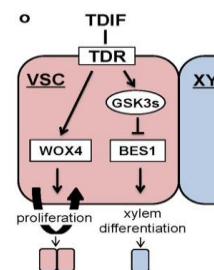
本研究の目的は、植物成長の鍵となる植物メリステムの組織構築機構を、維管束幹細胞の発生運命制御の解明を通して明らかにすることにある。特に、すでに私たちが発見したTDIF-TDR受容体キナーゼのシグナル伝達機構とLHW転写因子を対象に、その働きを解析し、維管束幹細胞の発生運命の制御を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、この維管束幹細胞の発生運命の制御機構を、(1) 維管束幹細胞の維持機構、(2) 維管束幹細胞の成立の分子機構、(3) 維管束幹細胞からの木部道管分化機構の3つに分けて解析する。

4. これまでの成果

- (1) 維管束幹細胞の維持機構
1) 酵母ツーハイブリッド法を用いて、TDRと結合するシロイヌナズナタンパク質の探索を行い、GSK3sの1種BIN2を見いだした。
2) TDRとシロイヌナズナ10種のGSK3タンパク質との結合を調べ、6種のタンパク質がTDRと結合をすることを明らかにした。
3) この結合は細胞外のTDIFにより、解除された。
4) 4重、6重変異体を作成して表現型解析を行い、GSK3タンパク質はredundantにTDIF-TDRシグナルを伝達していること、本経路は維管束幹細胞からの木部分化阻害のみに働き、分裂経路とは独立であることが示された。
- (2) 下流因子の探索を行い、BES1転写因子がGSK3の下流因子であることを明らかにした。
- (3) 以上の結果をまとめ左図のモデルを提唱した(論文1)。



(2) 維管束幹細胞の成立の分子機構

維管束幹細胞の成立の解明に向けて、bHLH型の転写因子LHWの機能解析を行った。

- 1) *lhw*および*LHW*の過剰発現植物における

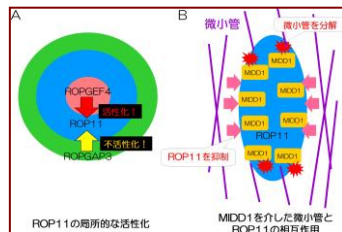
オーキシン関連遺伝子 (*MP*, *PIN1*, *AtHB8*) の発現解析を行い、*LHW* がこれらの遺伝子の発現を上昇させることを明らかにした。

2) *lhw* の初期胚では維管束幹細胞数が減少することが明らかとなった。

3) その他の結果を総合し、*LHW* はオーキシシンシグナルの上流で機能し、胚形成初期にオーキシン運河化を誘導し、その結果としてオーキシンの流れに沿った維管束幹細胞の形成を誘導するとの仮説を提出した (論文 2)。

(3) 維管束幹細胞からの木部道管分化機構

木部分化過程初期の分子機構について、*VND6* 発現木部分化誘導系を用いて、分化初期の形態形成制御のしくみを解析した。その結果、*ROP11* (small G タンパク質) の自発的な活性化とそれに伴うキネシン 13A/*MIDD1* 複合体のリクルートが局所的な微小管破壊を引き起こし、細胞膜上の非対称性を生じさせ、これが細胞形態の違いを作り出すことが明らかとなった (右図) (論文 4-7)。



(4) 想定外の成果

新規維管束細胞分化誘導系の確立

私たちの研究で、植物 *GSK3* キナーゼの特異的阻害剤である *bikinin* が異所的な木部分化を誘導することを見いだした。そこで、この *bikinin* を用いてシロイヌナズナ木部分化誘導系の構築を試み、*bikinin* 添加により木部分化を高頻度かつ同調的に誘導できる *leaf disk* 系の開発に成功した。

5. 今後の計画

今後ともこれまで同様 3 つのサブテーマの解析を行う。

(1) 維管束幹細胞の維持機構：

1) すでに、*TDIF-TDR-GSK3-BES1* 経路を明らかにしたので、*TDR* による *GSK* リン酸化の詳細を解析する。また、*BES1* は *bHLH* 型の転写因子であるので、木部分化抑制の鍵となる *BES1* のターゲット遺伝子についての解析を行う。

2) すでに同定してきた *WOX4* ターゲット候補遺伝子について遺伝学的、細胞学的手法を用いてその機能を明らかにする。

3) *TDR-3xGFP* を用いた *TDR* の細胞内極性について解析を行う。

(2) 維管束幹細胞の成立の分子機構：

1) *LHW* と *TMO5* の 2 つの遺伝子を同時に誘導できるシロイヌナズナ培養系を用いて 2 つの転写因子に誘導される遺伝子群

を明らかにした。そこで、これらの遺伝子の機能解析を進める。

2) 新たに作成した *leaf disk* 培養では、葉肉細胞から維管束幹細胞の分化を経て、木部細胞が分化する。そこで、この実験系を用いてマイクロアレー解析を行い、維管束幹細胞成立に関する新規因子の同定を行う。

(3) 維管束幹細胞からの木部道管分化機構

1) *BR* シグナルと *TDIF* シグナルのハブになるのが *GSK3* であるのが明らかになったので、2 つのシグナルによる *GSK3* 機能の制御のしくみを明らかにする。

2) 木部分化のマスター因子は *VND* 遺伝子群であるので、木部分化への発生運命について、*BES1* と *VND7/VND6* との関連を遺伝学及び細胞生物学を用いて明らかにする。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)
主な発表論文

1. Kondo, Y., Ito, T., Nakagami, H., Hirakawa, Y., Saito, M., Tamaki, T., Shirasu, K., and Fukuda, H.: Plant *GSK3s* regulate stem cell differentiation downstream of *TDIF-TDR* signalling. *Nature Com.* in press.
2. Ohashi-Ito, K., Obuchi, M., Kojima, M., Sakakibara, H. and Fukuda, H.: Auxin-associated initiation of vascular cell differentiation by *LONESOME HIGHWAY*. *Development* 140: 765-769, 2013.
3. Endo, S., Shinohara, H., Matsubayashi, Y., and Fukuda, H.: A novel pollen-pistil interaction conferring high temperature tolerance during reproduction via *CLE45* signaling. *Curr Biol.*, 23: 1670-1676, 2013.
4. Oda, Y. and Fukuda, H.: Rho of plant GTPase signaling regulates the behavior of *Arabidopsis* Kinesin-13A to establish secondary cell wall patterns. *Plant Cell* 25: 4439-4450, 2013.
5. Oda, Y., and Fukuda, H.: Spatial organization of xylem cell walls by *ROP* GTPases and microtubule-associated proteins. *Curr. Opin. Plant Biol.* 16: 743-748, 2013.
6. Oda, Y. and Fukuda, H.: Initiation of cell wall pattern by a Rho- and microtubule-driven symmetry breaking. *Science* 337, 1333-1336, 2012.
7. Oda, Y., and Fukuda, H.: Secondary cell wall patterning during xylem differentiation. *Curr. Opin. Plant Biol.* 15: 38-44, 2012.

受賞

紫綬褒章 (平成 24 年 11 月 3 日)

ホームページ等

<http://www.riken.go.jp/eng/JINJI/000712.html>