


科学研究費補助金（学術創成研究費）公表用資料  
〔研究進捗評価用〕

平成19年度採択分  
平成22年4月27日現在

研究課題名（和文）	植物体内における細胞集団の分化状態を規定するシグナル分子の機能探索	
研究課題名（英文）	Analysis of intercellular signaling molecules working in organ development and differentiation in plants	
研究代表者 氏名	岡田清孝(Okada Kiyotaka)	
所属研究機関・部局・職	自然科学研究機構・基礎生物学研究所・所長	

推薦の観点：創造的・革新的・学際的学問領域を創成する研究

研究の概要：多くの植物の体は、動物と同様に多数の細胞から出来ているが、植物と動物の体が作られる仕組みは大きく異なっている。植物体の基本型は根と茎が上下につながった構造で、両端にある分裂組織から葉、茎、根などの器官が作られる。分裂組織において正しい場所に正しい間隔で葉を作るためには、細胞間でシグナルを交換する必要がある。本研究は、新たな実験手法を開発して、植物体を作る際に働く細胞間シグナルの実体を明らかにすることを目指している。

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・植物生理・分子

キーワード：植物器官発生、細胞間シグナル、ペプチドホルモン、分裂組織

1. 研究開始当初の背景 多細胞からなる植物の器官の構築と発生過程についての研究は、シロイヌナズナをモデル系とする分子遺伝学とイメージング技術をはじめとする分子細胞学の解析によって急速に進展したが、細胞分裂と細胞分化の空間的制御に関わる「細胞間シグナル」の分子実体とその機構の解析は未解決であった。

2. 研究の目的 本研究は、分裂組織において器官が形成される際に働く「細胞間シグナル」を明らかにすることを目的としている。「細胞間シグナル」の候補として、短いペプチド、microRNA、オーキシン、その他の低分子物質、を取り上げ、新たな研究手法を開発して、これらの分子が細胞間シグナルとしての機能を持つか、否かを調べる。

3. 研究の方法 (1)細胞間隙から調製したペプチドや新規な翻訳後修飾ペプチドについて生物機能、生成過程、分泌・輸送と受容の機構、などについて解析する。(2)分裂組織で働くmicroRNAを同定し、その働きを解析する。(3)新規突然変異体の解析から、オーキシン輸送複合体の形成の機構を解析し、新たな細胞間シグナル分子を同定して機能を調べる。(4)ペプチドを加えた培地中でシロイヌナズナを発芽させ、器官発生と形態の変化を観察するバイオアッセイ系を開発する。(5)微光束紫外光レーザーによる細胞破壊実験系や近赤外光レーザーによる遺伝子発現誘導系を開発して、細胞間シグナル分子の挙動と機能を調べる。

4. これまでの成果

・葉は、効率よく光合成をおこなうために、表側と裏側では細胞の形や機能が異なっており、葉の表側と裏側の領域を正しく決定するために、細胞間シグナルが重要であると考えられている。岡田・立松・槻木グループでは、葉の表側と裏側の領域が正しく決まらない突然変異体を解析し、その結果から、葉の表裏の領域決定に必要な新規因子としてコハク酸セミアルデヒド(SSA)または

その代謝産物を同定した。シロイヌナズナの芽生えから一方の子葉を除去し、茎頂分裂組織を剥き出して側面にSSAを与えると、表裏の方向が異常になった葉が生じる。SSAあるいはその代謝産物が、1950年代の茎頂分裂組織と葉原基を外科的に分断する実験によって指摘されていながら、実態が不明であったシグナル分子である可能性が高い。

・CLV3ペプチドは分裂組織の表皮細胞から細胞間隙に分泌され、分裂組織の中心部の細胞に働くことによって分裂組織の構造とサイズを一定に保つ役割を持った重要な細胞間シグナル分子である。澤グループは、合成ペプチドを用いた新たな手法を開発し、CLV3ペプチドが少なくとも3種の受容体によって受容されるという複雑な受容機構を明らかにした。また、前駆体タンパク質から活性を持つペプチドを切り出すペプチダーゼを同定するための新たな手法を開発し、ペプチダーゼを多数同定して機能を解析している。この成果は、動物や植物の体作りや代謝機能など様々な働きを持つペプチドホルモンの分析に大きく貢献すると考えられる。

・分泌型ペプチドの中でも翻訳後修飾ペプチドは、生合成するために余分なエネルギーコストを伴うことから、進化的に保存されてきた翻訳後修飾ペプチドには、生物にとってそのコストを上回るメリットがあると期待される。松林グループは、チロシン硫酸化ペプチドの選択的濃縮・検出系を確立して、シロイヌナズナ細胞培養液について網羅的な解析を行ない、植物体において全身的な細胞増殖と細胞肥大に関与する新規な硫酸化ペプチドPSY1を同定し、チロシン硫酸化酵素(TPST)の精製とクローニングにも成功した。さらに、根端の分裂組織の維持と成長に関与する新規な硫酸化ペプチドホルモンを同定して、解析を続けている。研究の過程でペプチドの微量解析系を確立し、この系を利用して、CLV3の成熟型構造が、アラビノース糖鎖の付加したグリコペプチドであることを見出し、受容体であるCLV1に直接

#### [ 4. これまでの成果 (続き) ]

結合することを証明した。これらの手法は、動物など他の系における翻訳後修飾ペプチドホルモンの探索にも使えるので学術的なインパクトは大きい。

・植物ホルモンであるオーキシンは植物体内を定まった方向に輸送され、細胞はオーキシンの濃度に応答して増殖と組織化をおこなう。オーキシンは、分裂組織の維持、葉原基の形成、維管束組織の形成などの多様な役割を持つシグナル分子であり、それぞれの過程においては、オーキシンの極性輸送の方向と輸送量の制御が重要と考えられている。槻木グループは、維管束前駆細胞の協調的な細胞分化に関わる *NO VEIN (NOI)* 突然変異体を単離して解析し、オーキシンの分布を制御する新たな分子複合体が存在することを示唆する結果を得た。

岡田グループは、シグナル分子を生成分泌する細胞・組織、移行経路、受容細胞・組織を解析するための新規な装置として、微光束紫外光レーザー顕微鏡による細胞破壊実験系を新たに開発し、茎頂分裂組織の一細胞 (径 10µm) のみを照射して破壊することを可能にした。また、赤外線レーザー顕微鏡を用いて、植物体の任意の細胞で遺伝子の発現を誘導する実験系を開発した。これらの新たな実験装置と実験系は、植物のみならず動物にも適用可能であり、共同研究用機器として多くの研究者の利用に供する予定である。

#### 5. 今後の計画

研究期間が終了するまでの間に研究目的を達成するために、主に以下の解析をおこなって成果を発表する。(1) コハク酸セミアルデヒド (SSA) あるいはその代謝産物が、側生器官の表と裏の発生に関わる新規シグナル分子であるか否かの確認作業とともに、シロイヌナズナの花序塊の細胞間隙から抽出したペプチド分子の機能解析を急ぐ。(2) 次世代シーケンサーを用いた突然変異体の原因遺伝子の単離法を確立し、ペプチドホルモン下流のシグナル伝達因子の候補突然変異体の原因遺伝子を単離して研究結果をまとめる。(3) チロシン硫酸化酵素 (TPST) の遺伝子破壊株 (*tpst-1*) の表現型解析を進め、硫酸化ペプチドの植物成長における役割の全体像を解明する。(4) オーキシンの分布を制御する上位機構に関わる遺伝子の生化学的機能を明らかにする。

#### 6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

(研究代表者は二重線、研究分担者は一重下線、連携研究者は点線)

COE1, an LRR-RLK responsible for commissural vein pattern formation in rice. Sakaguchi, J., Itoh, J., Ito, Y., Nakamura, A., Fukuda, H. and Sawa, S. Plant J. In Press (2010).

NO VEIN Mediates Auxin-Dependent Specification and Patterning in the *Arabidopsis* Embryo, Shoot, and Root. Tsugeki, R., Ditengou, D.A., Sumi, Y., Teale, W., Palme, K. and Okada, K. Plant Cell, 21, 3133-3151 (2009).

Jasmonic acid control of GLABRA3 links inducible defense and trichome patterning in *Arabidopsis*. Yoshida, Y., Sano, R., Wada, T., Takabayashi, J. and Okada, K. Development, 136, 1039-1048 (2009)

Identification of tyrosylprotein sulfotransferase in *Arabidopsis*. Komori, R., Amano, Y., Ogawa-Ohnishi, M. and Matsubayashi, Y. Proc Natl Acad Sci U S A, 106: 15067-15072 (2009).

A glycopeptide regulating stem cell fate in *Arabidopsis thaliana*. Ohyama, K., Shinohara, H., Ogawa-Ohnishi, M. and Matsubayashi, Y. Nature Chem

Biol, 5: 578-580 (2009).

VAJ/GFA1/CLO is involved in the directional control of floral organ growth. Yagi, N., Takeda, S., Matsumoto, N. and Okada, K. Plant Cell Physiol., 50: 515-527 (2009).

Evolution of CLE signaling. Miwa, H., Tamaki, T., Fukuda, H. and Sawa, S. Plant Signaling & Behavior, 4: 477-481 (2009).

Plant meristems: CLV3/ESR-related signaling in the shoot apical meristem and the root apical meristem. Miwa, H., Kinoshita, A., Fukuda, H. and Sawa, S. J. Plant Res., 122: 31-39 (2009).

*Arabidopsis* CLV3 peptide directly binds CLV1 ectodomain. Ogawa, M., Shinohara, H., Sakagami, Y. and Matsubayashi, Y. Science, 319: 294 (2008).

The receptor-like kinase SOL2 mediates CLE signaling pathway in *Arabidopsis*. Miwa, H., Betsuyaku, S., Iwamoto, K., Kinoshita, A., Fukuda, H. and Sawa, S. Plant Cell Physiol. 49: 1752-1757 (2008).

A large family of genes that share homology with CLE domain in *Arabidopsis* and rice. Sawa, S., Kinoshita, A., Betsuyaku, S. and Fukuda, H. Plant Signaling & Behavior. 3: 337-339 (2008).

Identification of a biologically active, small, secreted peptide in *Arabidopsis* by *in silico* gene screening, followed by LC-MS-based structure analysis. Ohyama, K., Ogawa, M. and Matsubayashi, Y. Plant J. 55:152-160 (2008).

Gain-of-function phenotypes of chemically synthetic CLAVATA3/ESR-related (CLE) peptides in *Arabidopsis thaliana* and *Oryza sativa*. Kinoshita, A., Nakamura, Y., Sasaki, E., Kyojuka, J., Fukuda, H. and Sawa, S. Plant Cell Physiol., 48: 1821-1825 (2007).

Tyrosine-sulfated glycopeptide involved in cellular proliferation and expansion in *Arabidopsis*. Amano, Y., Tsubouchi, H., Shinohara, H., Ogawa, M. and Matsubayashi, Y. Proc Natl Acad Sci U S A, 104: 18333-18338 (2007).

Functional immobilization of plant receptor-like kinase onto microbeads towards receptor array construction and receptor-based ligand fishing. Shinohara, H. and Matsubayashi, Y. Plant J, 52: 175-184 (2007).

ホームページ等

<http://www.nibb.ac.jp/sections/okada-k.html>

<http://www.biol.s.u-tokyo.ac.jp/users/seigyo/lab.html>

<http://www.agr.nagoya-u.ac.jp/~bioact/matsu/index.html>

[http://www.bot.kyoto-u.ac.jp/j/5\\_iden.html](http://www.bot.kyoto-u.ac.jp/j/5_iden.html)