

## CLE ペプチドをモデルとした 植物モルフォゲンの進化と作用機構に関する研究

Analysis for evolution of plant morphogen, CLE as a model peptide

澤 進一郎 (SAWA SHINICHIRO)

東京大学・大学院理学系研究科・准教授



### 研究の概要

本研究では、CLE ペプチドホルモンをモデルとして、植物のペプチドホルモンがどのように作られ、どのように細胞間や受容後のシグナル伝達が行われるのか、その分子実体を明らかにすると共に、分子挙動を理解することを目的としている。また、モルフォゲンとして機能することを想定し、CLE ペプチドの分子進化や機能進化について包括的な解析を行う。

研究分野：植物分子遺伝学

科研費の分科・細目：基礎生物学 植物生理・分子

キーワード：植物分子 形態形成

### 1. 研究開始当初の背景

植物は、器官を切除して培養することや、分化全能性をひきだすことが容易であることから、いかにも各器官、組織、細胞が自律分散的に生きているように見える。しかし、中枢神経系を持つ動物のような中央管理型の生命形態ではないにもかかわらず、各器官（細胞）の間では確実に情報のやりとりを行っていて、個体としての統一性を保っている。それでは、どのようにして各器官（細胞）の間で情報のやりとりを行っているのか。また、各細胞は、細胞自身の位置情報や、環境、発生プログラムをどのように認識して自分自身を分化させ“個体”を形作っているのか。現在までに動物の空間認識には拡散性の物質がモルフォゲンとして重要な機能を持つことがよく知られている。しかし植物ではモルフォゲンは同定されておらず、唯一の候補として植物ホルモンであるオーキシンがあげられているのみである。本研究ではこのモルフォゲンを想定した空間認識機構の解析を試み、その分子基盤の構築を目指す。

### 2. 研究の目的

本研究では、多細胞植物の空間認識機構において機能するペプチドホルモンの作用様式を明らかにするために、シロイヌナズナの茎頂分裂組織の構築に寄与する CLV3 及びそのホモログである CLE 遺伝子群の解析を行う。

### 3. 研究の方法

CLV3 (CLE) ペプチドを利用して、細胞間シグナル伝達機構におけるリガンド合成場所の特定、リガンドのプロセッシングや各種修飾、それに続く細胞外への放出と細胞間の移動様式、さらには受容様式といった一連の過程と、リガンドの受容後に続く細胞内シグナル伝達機構の全容を解明すると共に、多細胞植物に必須な CLV3 (CLE) ペプチド、またそのシグナル伝達系が如何に利用され進化してきたかを解明する。特に CLV3 は多細胞から成る分裂組織の構築、維持に必須であるが、単細胞から成る茎頂分裂組織をもつヒメツリガネゴケにおいても CLE 遺伝子は多数存在する。この CLE 遺伝子の機能的進化にも注目した解析を行うことで、CLE ペプチドの機能を多面的に解析する。

### 4. これまでの成果

(1) ペプチドに様々な蛍光タグを結合し移動様式の観察を行ったが、現在、適切な蛍光タグがみつかっていない。しかし、4番目のアミノ酸に蛍光物質を結合した合成ペプチドは体内で機能的であるため、これをもちいた移動様式の解明を行いたいと考えている。  
(2) 合成ペプチド耐性突然変異体として、40以上の突然変異体を既に単離した。そのうち、SOL2, CLI1 を既に同定、報告している。  
(3) ペプチドが糖鎖修飾を受けていることが判明したため、現在、糖鎖修飾付の合成ペプチド合成を試みている。これを用いて、生

化学的なアッセイを行う。

(4) ペプチドホルモン遺伝子の過剰発現には耐性で、合成ペプチドには感受性を示す突然変異体は、ペプチドホルモンの生成段階に必要なことが示唆される。シロイヌナズナの *sol1* 突然変異体はその候補として同定出来た。また、ペプチドホルモンに相当するアミノ酸配列の直前の配列に、プロテアーゼ阻害剤を結合させ、さらに、ビオチンを結合させた合成ペプチドを作成した。これを用いて、タンパク質免疫沈降法を利用して、ペプチダーゼの候補を多数単離した。

(5) 顕微操作によるペプチドの茎頂への塗布系開発を行っている。現在、細胞単位でペプチドを塗布出来るようになってきている。

(6) ゼニゴケ、ヒメツリガネゴケ、セラジネラ、カニクサなど、様々なコケ植物、シダ植物を利用してペプチドアッセイや分子遺伝学的解析を行っている。その結果、ゼニゴケでは表皮細胞の分化に関わること、ヒメツリガネゴケでは原糸体の細胞伸長に関わるなど、様々な機能が明らかとなった。

#### 5. 今後の計画

これまでの成果(1-6)に関して、さらなる研究を続け、植物ペプチドホルモンのモルフोजンとしての機能や分子進化、機能進化に関する解析を進める。

#### 6. これまでの発表論文等

##### 雑誌論文等

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

2 ; Naramoto, S., Sawa, S., Koizumi, K., Uemura, T., Ueda, T., Friml, J., Nakano, A., and Fukuda, H. (2009) Phosphoinositide-dependent regulation of VAN3 ARF-GAP localization and activity essential for vascular tissue continuity in plant. *Development* 136 (9):1529-38

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

4 ; Hirakawa, Y., Shinohara, H., Kondo, Y., Inoue, A., Nakanomyo, I., Ogawa, M., Sawa, S., Ohashi-ito, K., Matsubayashi, Y., and Fukuda, H. (2008) Non-cell-autonomous control of vascular stem cell fate by a CLE peptide/receptor system. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 105: 15208-15213.

5 ; Miwa, H., Betsuyaku, S., Iwamoto, K.,

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

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

7 ; Fukunaga, H., Sawa, S. and Sawa, Y. (2008) A new form of *Lecanorchis kiusiana* (Orchidaceae) from Kochi, Japan. *The Orchid Review.* 116: 106-108

8 ; 福永裕一、澤進一郎、澤完 (2008) 四国におけるハルザキヤツシロラン、アキザキヤツシロラン、及びクロヤツシロランの分布分類 8: 141-147

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

10 ; Fukuda, H., Hirakawa, Y., and Sawa, S. Peptide signaling in vascular development. (2007) *Curr Opin Plant Biol.* 10: 477-482

11 ; Ohto, M., Hayashi, S., Sawa, S., Ohta, A. H., and Nakamura, K. (2007) Involvement of HLS1 in sugar and auxin signaling in *Arabidopsis* leaves. *Plant Cell Physiol.* 47: 1603-1611.

12 ; 福永裕一、澤進一郎、澤完 野生動物の摂食行動がカンアオイ類の種子散布に与える影響 *Nature study* (2009) 55, 161-163

13 ; 福永裕一、澤進一郎、澤完 カンアオイ類の種子散布に関するアリの観察 *Nature study* (2010) 56,5-6

14 ; Sawa, S. (2008) Basic analysis for the defense of soybean cyst nematodes by using synthetic peptides. *Soy Protein Research.* 11, 40-44

##### 特許

stress-responsive root specific genes  
Setsuko Komatsu, Shinichiro Sawa, Tomokazu Koshihara  
US patent US7605303B2, 2009

##### 受賞

日本植物学会奨励賞 受賞 2007

##### ホームページ等

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