

平成 22 年 5 月 23 日現在

研究種目：特定領域研究

研究期間：2007 ~ 2012

課題番号：19060007

研究課題名（和文） 茎頂メリステム形成の統御系

研究課題名（英文） Regulation mechanisms of shoot apical meristem

研究代表者

田坂 昌生 (TASAKA MASAO)

奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス研究科・教授

研究者番号：90179680

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・植物分子生物学・生理学

キーワード：シロイヌナズナ, CC-NB-LRR, 茎頂メリステム, UNI 遺伝子, オーキシン, MAB4

1. 研究計画の概要

双子葉植物の茎頂メリステム (SAM) は胚発生過程で 2 枚の子葉の間に形成され、これが発芽後主茎とそれに派生する器官を構築する。一方、葉の根元に側芽メリステムができ枝になり、それが変形すると花となる。本研究ではこれら SAM の形成と維持、そこからの器官形成の分子機構を明らかにするために次の 2 つの研究を行う。(1) SAM から器官を形成する過程で重要な働きをするオーキシンの極性を持った分布の構築機構とそれを支える細胞内極性輸送の分子メカニズムの実態を明らかにする。(2) R タンパク質の一つである UNI タンパク質が恒常的にシグナルを発するように成った機能獲得型変異 *uni-1D* では、SAM の維持の異常、異所的な腋性分裂組織の形成が見られる。そこで *uni-1D* を有効に活用することを通じて、SAM の制御を中心とした形態形成メカニズムの全く新しい切り口の発見を目指す。

2. 研究の進捗状況

本研究は大きく二つのテーマで研究を遂行している。以下にそれぞれの進捗状況を示す。(1) オーキシンの極性を持った分布の構築機構の解析；オーキシンの偏差分布にオーキシン細胞外排出タンパク質 PIN、その調節に関与するキナーゼ PID が知られている。本研究は、*pid* のエンハンサーとして MAB2 と MAB4 を

単離し解析している。

① MAB4 ファミリー遺伝子群多重変異体 *mab4 mel1 mel2* において PIN1 タンパク質の細胞膜上の存在量が著しく低下し、同時に極性分布も弱まっていた。*mel1 mel2 mel3 mel4* 四重変異体は根の重力屈性以上を示し、PIN2 タンパク質の細胞内局在が異常を示した。これら、PIN タンパク質は細胞膜とエンドソーム間を再循環するが、多重変異体では野生型に比べ PIN タンパク質がより細胞膜から内部に取り込まれていた。

② MAB2 は基本的転写共役因子メディエーターの制御複合体 (CDK8 サブユニット) の *AtMed13* をコードしていた。*meb2* の解析から、MAB2 遺伝子は胚発生初期の胚の分裂パターンの決定やその後の子葉原基の形成および発達において機能すること判った。*mab2* の胚におけるオーキシンマーカ発現パターンが子葉原基予定領域において弱まっていた。また、酵母 two hybrid により、MAB2 は他のメディエーター構成因子と相互作用することを示した。

(2) 茎頂メリステム形成と維持の分子機構の解明；これまで、茎頂分裂組織 (SAM) および腋生分裂組織 (AM) にユニークな異常を示す *uni-1D* 変異体の解析を通じて、分裂組織の全く新しい制御機構の発見を目指した研究を行ってきた。そして、ERECTA (ER) 受容体キナーゼの機能欠損により *uni-1D* 変異体

のSAMの異常が回復した。また、*uni-ID*変異体のSAMの異常にはSAM外部でのERの機能が重要であった。さらに、ERファミリー因子群の機能をすべて欠損させると、*uni-ID*変異体のAMの異常もまた抑圧された。これらを踏まえた解析の結果、野生型背景においても、分裂組織外でのERファミリーの機能が分裂組織の制御に関わることが示唆された。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

二つのテーマで研究を遂行しているがどちらもおおむね順調に進展している。以下にそれぞれに関して理由を示す。

(1) オーキシンの極性を持った分布の構築機構の解析; *MAB4*並びにそのファミリー遺伝子 *MEL* が機能重複してオーキシンが関連した地上部の形態形成や根の重力屈性に関与する事を遺伝学的に明らかにし、PINタンパク質の細胞膜上での極性を持った制御に関わる事を明らかに出来、どのようにして細胞極性が生じ維持されるのかに対する新規性の高いモデルを示す準備ができつつ有る。また *MAB2* に関してもクローニングを終え、その機能解析をスタートできた。

(2) 茎頂メリステム形成と維持の分子機構の解明; *uni-ID*に見られる多くの表現型を独立性の高い3つの表現型に分類でき、それぞれに関して表現型を分子レベルで的確に判断できる様になった。これは、今後は分子マーカーを使って信号伝達系の実態を解析できる可能性を示す。そして、抑圧変異の解析から、活性型UNIがどのように形態異常を引き起こすかの分子基盤の一端が明らかになりつつ有る。

4. 今後の研究の推進方策

(1) ① *MAB4* と相互作用する因子の探索を生化学的および分子遺伝学的に行い、*MAB4* ファミリータンパク質によるPINタンパク質の局在制御機構を明らかにしていく。② オーキシン応答における *MAB2* の役割を明らかにするため、*MAB2* と相互作用する因子を単離し、それらのターゲット遺伝子の特定を目指す。
(2) これまでに複数獲得している *uni-ID* 変異体の抑圧変異体の解析を進める。特に、ERファミリーと遺伝学的に相互作用する抑圧変異体に重点を置く。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 19 件)

① Karim M.R. , Hirota A. , kwiatkowska D. ,

Tasaka M. and Aida M. (2009) A role for *Arabidopsis PUCHI* in floral meristem identity and bract suppression *Plant Cell* 21:1360-137278, (査読有り)

② Igari K. Endo S. Hibara K. Aida M. Sakakibara H. Kawasaki T. and Tasaka, M. (2008) Constitutive activation of a CC-NB-LRR protein alters morphogenesis through the cytokinin pathway in *Arabidopsis* *The Plant Journal* 55 14-27 2008, (査読有り)

③ Furutani M. , Kajiwarra T. , Kato T. , Treml B.S. , Stochum C. , Torres-Ruis R. and Tasaka M. (2007) The gene *MACCHI-BOU4/ENHANCER OF PINOID* encodes a NPH3-like protein and reveals similarities between organogenesis and phototropism at the molecular level *Development* 134 3849-3859 , (査読有り)

[学会発表] (計 55 件)

① Tasaka M. ; *MAB4/ENP* family proteins involved in Auxin-regulated morphogenesis in *Arabidopsis* *The 9th International Plant Molecular Biology* 2009 Nov. St Louis USA (Keynote speaker)

② Tasaka M. ; Auxin mediated lateral root development in *Arabidopsis* *5th International Symposium on Adventitious Root Formation* 2008 June Madrid Spain (Plenary lecture)