

平成 22 年 4 月 12 日現在

研究種目：特定領域研究
研究期間：2007～2012
課題番号：19060009
研究課題名（和文） 情報統御分子の伝搬器官としての維管束系の分化
研究課題名（英文）
Development of vascular bundles as a center of the intercellular signaling network
研究代表者：
福田 裕穂（Fukuda Hiroo）
東京大学・大学院理学系研究科・教授
研究者番号：10165293

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：CLE ペプチド, マスター遺伝子, シロイヌナズナ, 維管束, 受容体, フォスファチジルイノシトール, 前形成層

1. 研究計画の概要

これまでに、主として特定領域計画研究「茎頂根端軸の形成・維持を支配する細胞間相互作用の解析」の支援のもとで、維管束の連続性の促進因子としてアラビノガラクトナンタンパク質 xylogen、管状要素分化の阻害因子として 12 個のアミノ酸からなる TDIF ペプチド、また、維管束連続性に関わる細胞内のシグナル伝達として小胞輸送に関連する VAN3 タンパク質、管状要素分化のマスター遺伝子として VND 転写因子群、維管束幹細胞から木部細胞への分化のトリガーとなるブラシノステロイドなどを単離同定してきた。興味深いことに、これらの因子の多くはメリステム形成あるいはメリステム機能と関連していた。本研究においては、これら因子の機能と相互の関係を分子レベルで明らかにすることにより、メリステムと関連した維管束系の形成機構の解明を目指す。

2. 研究の進捗状況

(1) TDIF ペプチドの受容体 TDR の同定：

TDIF ペプチドの対する受容体を同定するために、*in situ* で TDIF ペプチド活性を測定するバイオアッセイ系を開発した。このアッセイ系を用いて解析し、ある LRR-RLK が TDIF の受容体である可能性が考えられた。この LRR-RLK は TDIF と特異的に結合した。その他、遺伝学的・生理学的実験を合わせて、この LRR-RLK が TDIF の特異的な受容体であると結論し、TDR と名付けた。

(2) TDIF-TDR の発現と機能の解析

TDIF をコードしているシロイヌナズナ遺

伝子 *CLE41*、*CLE44* のプロモーター解析と TDIF ペプチド抗体を用いた解析により、TDIF は師部を中心とした細胞によりつくられ、細胞外に分泌されることが明らかとなった。一方、*TDR* は前形成層に特異的に発現することが明らかとなった。また、*TDR* の機能欠損変異では、前形成層の数が減っていた。これまでの結果を総合して、(1) TDIF は師部から分泌され、前形成層細胞において TDR により受容される、(2) そのシグナルは、前形成層細胞の分裂を促進するとともに、前形成層からの木部道管への分化を抑制する、と結論した。これは、木部と師部のシグナルのクロストークを示す初めての証拠となった。

(3) TDIF-TDR 下流シグナルの解析：

TDR 受容体の下流のシグナルカスケードを解析した。その結果、*WOX4* は TDR の下流で前形成層細胞の分裂を促進する転写因子として機能していることが明らかとなった。

(4) VAN3 との相互作用因子の探索：

VAN3 は維管束の連続的形成を担う因子で、ARF-GAP 活性をもつ。今回、遺伝学的解析、*yeast two hybrid* 系を用いて、*VAN3* と相互作用する因子として、*CVP2* と新規因子 *VAB* を同定した。細胞学的、遺伝学的解析により、これらの因子は *VAN3* の局在を制御していると考えられた。

(5) 木部繊維と道管の分化制御の解析：

木部繊維細胞のマスター遺伝子 *NST1* と後生木部道管のマスター遺伝子 *VND6* をエストロゲン誘導型にしてシロイヌナズナ培養細胞に導入し、形質転換細胞ラインを作成した。これらラインを用いてマイクロアレイを行

い、マスター遺伝子により直接支配される遺伝子群を同定した。

3. 現在までの達成度

当初の計画以上に進展している。TDIF の受容体が予想以上に早く同定できたために、その後の解析が飛躍的に進展し、ペプチドによる維管束幹細胞の分裂分化制御という新規の発見へとつながった。

4. 今後の研究の推進方策

今後、TDIF-TDR が担う維管束幹細胞の維持機構を詳細に解析するとともに、それ以外の CLE ペプチドの維管束形成に関する働きを明らかにする。また、これまでの解析から細胞内での小胞の極性輸送が維管束の連続性に関与してきていることが明らかになっていることから、極性形成における ARF-GAP の役割を解析する。また、維管束運命の決定に関与するマスター転写因子の機能を、その下流遺伝子の機能を解析することで解明する。これらのデータを総合して、維管束形成における情報統御の仕組みを明らかにする。

5. 代表的な研究成果

〔雑誌論文〕(計 22 件)

Kuroha, T., Tokunaga, H., Kojima, M., Ueda, N., Ishida, T., Nagawa, S., Fukuda, H., Sugimoto-Shirasu, K., and Sakakibara, H.: Functional analyses of the Arabidopsis *LONELY GUY* family encoding cytokinin-activating enzymes reveal the importance of the direct activation pathway in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell* 21, 3152-3169, 2009.

Endo, S., Pesquet, E., Yamaguchi, M., Tashiro, G., Sato, M., Toyooka, K., Nishikubo, N., Motose-U., M., Kubo, M., Fukuda, H. and Demura, T.: Identifying new components participating in the secondary cell wall formation of vessel elements in *Zinnia* and *Arabidopsis*. *Plant Cell* 21, 1155-1165, 2009.

Naramoto, S., Sawa, S., Koizumi, K., Uemura, T., Ueda, T., Friml, J., Nakano, A. and Fukuda, H.: Phosphoinositide-dependent regulation of VAN3 ARF-GAP localization and activity essential for vascular tissue continuity in plants. *Development* 136, 1529-1538, 2009.

Yoshida, S., Iwamoto, K., Demura, T. and Fukuda, H.: Comprehensive analysis of the regulatory roles of auxin in early transdifferentiation into xylem cells. *Plant Mol Biol.*, 70, 457-469, 2009.

Motose, H., Iwamoto, K., Endo, S., Demura, T., Sakagami, Y., Matsubayashi, Y., Moore,

K. L. and Fukuda, H.: Involvement of phytosulfokine in the attenuation of stress response during the transdifferentiation of *Zinnia* mesophyll cells into tracheary elements. *Plant Physiol.* 150, 437-447, 2009.

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

Yamaguchi, M., Kubo, M., Fukuda, H. and Demura, T.: VASCULAR-RELATED NAC-DOMAIN7 is involved in differentiation of all types of xylem vessels in Arabidopsis roots and shoots. *Plant J.* 55, 652-664, 2008.

Endo, S., Pesquet, E., Tashiro, G., Kuriyama, H., Goffner, D., Fukuda, H. and Demura, T.: Transient transformation and RNA silencing in *Zinnia* tracheary element differentiating cell cultures. *Plant J.* 53, 864-875, 2008.

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

Demura, T. and Fukuda, H.: Transcriptional regulation in wood formation. *Trends in Plant Sci.* 12, 64-70, 2007.

Pyo, H., Demura, T., and Fukuda, H.: TERE; a novel cis-element responsible for a coordinated expression of genes related to programmed cell death and secondary wall formation during tracheary element differentiation. *Plant J.* 51, 955-965, 2007.

〔学会発表〕(計 89 件)

Fukuda, H. (2008) Cell-cell communication governing vascular tissue organization (invited, Plenary lecture). The XVI Congress of the Federation of European Societies of Plant Biology. Tampere, Finland, August, 21, 2008.

など、海外 21 件、国内 68 件

〔図書〕(計 3 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ:

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