

研究種目： 特定領域研究
 研究期間： 2007 ~ 2012
 課題番号： 19060011
 研究課題名（和文） 胚性メリステムから栄養メリステムへの転換の統御系
 研究課題名（英文） Regulation of transition of embryonic meristem to vegetative meristem
 研究代表者
 中村 研三 (Kenzo Nakamura)
 名古屋大学・大学院生命農学研究科・教授
 研究者番号： 80164292

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：種子成熟と発芽、転写制御とクロマチン、ゲノム維持とメリステム

1. 研究計画の概要

シロイヌナズナ胚発生で作られる茎頂と根端のメリステムが種子成熟に伴って休眠し、発芽後に栄養メリステムとして活動を開始する一連の過程は、ステージ特異的転写因子、植物ホルモンや栄養シグナルによって制御されている。LEC 転写因子群などによる種子成熟に至る転写カスケードの解明が進む中、種子成熟プログラムの停止・不活性化と栄養生長への転換に関わる転写制御機構は不明である。本研究では、HSI2 サブファミリーB3 転写抑制因子の標的遺伝子への作用機構の解析を通して、胚性から栄養メリステムへの転換における遺伝子発現の制御と植物ホルモンや栄養シグナルの情報統御を明らかにする。また、ゲノム維持因子 TONSOKU (TSK) や TEBICHI (TEB) がメリステム維持に担う役割を、遺伝学的解析やインフォマティクス手法などを用いて明らかにする。

○研究分担者：森上敦 (名城大学・農学部・教授)

2. 研究の進捗状況

(1). 種子成熟プログラム抑制と栄養生長への転換

HSI2 サブファミリー因子の機能解明には、直接の標的遺伝子を同定し、種子成熟から発芽に至る過程での標的遺伝子のクロマチン状態変化における HSI2、HSL1 の役割を明らかにすることが重要である。転写因子の結合 DNA コンセンサス配列決定のための簡易ランダム配列オリゴヌクレオチド選別法 (RSOS) を開発し、*hsi2* と *hs11* 変異株

に DEX-誘導性の *HSL1* や *HSI2* の RNAi を導入して任意に HSI2、HSL1 による抑制が解除される系を作り、直接の標的遺伝子の網羅的解析を進めている。HSI2-GFP 導入 *hsi2* 株や HSI2 抗体を作成し、種々の抗体を使った ChIP 解析も進めており、全体として研究は計画に沿って順調に進捗している。

(2). ゲノム維持因子とメリステム維持機構
tsk と *teb* 変異株はどちらも G2/M 細胞周期進行に異常を示し、ATR チェックポイントキナーゼが関与するが、メリステム異常が生じる機構は両変異株で異なることが明らかになり、*atr* との二重変異株の解析などから順調に成果が挙がっている。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

(1). 種子成熟プログラム抑制機構

種子成熟マスターレギュレーター of LEC2 や FUS3 は B3 ドメインによって種子成熟関連遺伝子の RY 配列 (CATGCA) に結合し、ABI3 は RY 配列への作用に加えて ABRE 配列結合性 bZIP 因子群と相互作用する。RSOS により、HSI2 と HSL1 は RY 様配列を認識するが両者の間で配列選択性は異なり、標的とする遺伝子は必ずしも重複しないことが示唆され、この結果は種々変異株のマイクロアレイ解析結果と矛盾しない。*hsi2* *hs11* 二重変異株で強く脱抑制される種子成熟遺伝子の一部は、DEX-誘導型 *HSL1*-RNAi 導入 *hsi2* や *HSI2*-RNAi 導入 *hs11* の芽生えの DEX 処理で脱抑制されず、種子成熟末期に HSI2、HSL1 により抑制されていると推定される。

APETALA2 (AP2) DNA 結合ドメインを2つ

もつ AP2 型転写因子には AP2, PLT1, ANT などメリステム機能や器官形成制御に関わるものが多いが、その結合配列はまだほとんど知られていない。シロイヌナズナの 14 種の AP2 型転写因子の 7 つについてコンセンサス DNA 結合配列を決定して比較し、3 グループに分類されることを明らかにした。

(2). TSK, TEB のメリステム維持機構 *teb* が示す G2/M 進行の遅れは *atr* 導入で低下したが、メリステム異常はむしろ亢進した。マイクロアレイと種々のインフォマティクス手法を使った遺伝子発現解析から、*teb* では転位因子 Helitron に隣接した遺伝子やタンDEM重複遺伝子の発現が高く、*atr* がそれを亢進することが明らかになった。TEB は複製時にこれら遺伝子領域の相同組み換えに関与したクロマチン構造維持に必要と推定される。*atr* 変異は *tsk* の G2/M 進行停止も抑制したが、メリステム異常も抑制し、*tsk* 変異株での ATR 活性化が発生異常に関わると推定される。*tsk* はヘテロクロマチン転写サイレンス情報 (TSI) の脱抑制を示すが、ヒストン H3 のアセチル化レベルが高く、HDAC 阻害剤に対して高感受性を示し、TEB の機能喪失に伴うクロマチン状態異常が ATR を活性化すると推定された。

4. 今後の研究の推進方策

HSI2, HSL1 の直接の標的遺伝子となる種子成熟遺伝子領域の、種子成熟から発芽に至る過程でのクロマチンのヒストン修飾や配列特異的転写因子の結合状態の変化とそこに HSI2 や HSL1 がどのように関与するかを明らかにし、植物ホルモンや栄養シグナルとの関連を明らかにする。また種子成熟遺伝子プロモーターと LUC 発光レポーターとの融合遺伝子を用い、発芽後の発現抑制に異常を示す突然変異株を網羅的に解析する。*tsk* 変異株での ATR 活性化機構を、クロマチン構築に焦点を当てて解析する。

5. 代表的な研究成果

[雑誌論文] (計 10 件)

1. Tabata, R., Ikezaki, M., Fujibe, T., Aida, M., Tian, C.-E., Ueno, Y., Yamamoto, K.T., Machida, Y., Nakamura, K. and Ishiguro, S.: Arabidopsis AUXIN RESPONSE FACTOR6 and 8 regulate jasmonic acid biosynthesis and floral organ development via repression of class 1 KNOX genes. *Plant Cell Physiol.* **51**: 164-175 (2010). 査読有
2. Inagaki, S., Nakamura, K. and Morikami, A.: A link between DNA replication, recombination, and gene expression revealed by genetic and genomic analysis of TEBICHI gene of

Arabidopsis thaliana. *PLoS Genet.* **5**: e1000613 (2009). 査読有

3. Maeo, K., Tokuda, T., Ayame, A., Mitsui, N., Kawai, T., Tsukagoshi, H., Ishiguro, S. and Nakamura, K.: An AP2-type transcription factor WRINKLED1 of *Arabidopsis thaliana* binds to AW-box sequence conserved among proximal upstream regions of genes involved in fatty acid synthesis. *Plant J.* **60**: 476-487 (2009). 査読有
4. Suzuki, T., Masaoka, K., Nishi, M., Nakamura, K. and Ishiguro, S.: Identification of *kaonashi* mutants showing abnormal pollen exine structure in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.* **49**: 1465-1477 (2008). 査読有
5. Terakura, S., Tagami, H., Kitakura, S., Ueno, Y., Machida, C., Wabiko, H., Aiba, H., Otten, L., Tsukagoshi, H., Nakamura, K. and Machida, Y.: An oncoprotein from the plant pathogen *Agrobacterium* has histone-chaperone-like activity. *Plant Cell* **19**: 2855-2865 (2007). 査読有
6. Kojima, H., Suzuki, T., Kato, T., Enomoto, K., Sato, S., Kato, T., Tabata, S., Sáez-Vasquez, Echeverría, M., Nakagawa, T., Ishiguro, S. and Nakamura, K.: Sugar-inducible expression of nucleolin-1 gene of *Arabidopsis thaliana* and its role in ribosome synthesis, growth, and development. *Plant J.* **49**: 1053-1063 (2007). 査読有
7. Tsukagoshi, H., Morikami, A. and Nakamura, K.: Two B3 domain transcriptional repressors prevent sugar-inducible expression of seed maturation genes in *Arabidopsis* seedlings. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **104**: 2543-2547 (2007). 査読有

[学会発表] (計 15 件)

1. Nakamura, K.: Transcriptional control of seed oil accumulation in *Arabidopsis thaliana*. 2010 Plant Winter Conference, POSTECH (Korea), Jan. 11-12 (2010). [Invited Talk]
2. Maeo, K., Tokuda, T., Ayame, A., Mitsui, N., Kawai, T. and Nakamura, K.: Sugar-regulated gene expression and the control of seed oil synthesis in *Arabidopsis*. Plant Biology 2008, Merida (Mexico), Jun. 27-Jul. 2 (2008) [Invited Talk]