

令和 元年 8 月 29 日現在

機関番号：82401

研究種目：国際共同研究加速基金（国際共同研究強化）

研究期間：2016～2018

課題番号：15KK0265

研究課題名（和文）脱分化から茎葉再分化への分子カスケード（国際共同研究強化）

研究課題名（英文）Dedifferentiation to redifferentiation: Molecular mechanism on de novo shoot formation at wound site(Fostering Joint International Research)

研究代表者

岩瀬 哲 (Iwase, Akira)

国立研究開発法人理化学研究所・環境資源科学研究センター・研究員

研究者番号：40553764

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 12,000,000円

渡航期間： 7ヶ月

研究成果の概要（和文）：植物は高い再生能力を有している。傷害など種々のストレスによってカルスを形成し、組織や個体全体を新しく作り直す。この分子メカニズムは未知の部分が多い。エピゲノムの変化が遺伝子発現制御に重要な役割を担うことが近年明らかになってきた。様々な刺激に対してエピゲノムがどのように変化するかについて網羅的に理解することは、細胞の分化や脱分化のメカニズムを解き明かすため今後益々重要になる。本研究では、傷害後のヒストン修飾変化を捉え、再生時における役割の一端を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

細胞の分化や脱分化は時空間的に連続した様々な遺伝子発現の結果であり、近年の生物学の重要な成果から、エピゲノムの変化が遺伝子発現制御に重要な役割を担うことが明らかになってきた。これらの変化と植物の分化・脱分化についての研究分野はここ数年のうちに盛んになってきている。本研究によって、植物細胞の脱分化・再分化時のエピゲノム変化をいち早く網羅的に理解出来たことは、現象の基礎的理解を深める基盤として今後も学術的な貢献をすると考えられる。また、得られた知見は、組織培養技術の改良にも応用でき、社会的な広がりも期待できる。

研究成果の概要（英文）：Plants have remarkable capacity for regeneration upon stresses. However, molecular mechanisms how wounding induces callus formation and successive organ/individual regeneration are still elusive. Recent studies start to uncover that epigenome alteration is critical steps for gene expression and cell fate specification. This study, by comprehensive understanding of these factors, succeeded to reveal a part of mechanisms on plant cell dedifferentiation and redifferentiation.

研究分野：植物生理学

キーワード：細胞リプログラミング 脱分化 再分化 カルス形成 転写因子 傷害応答 分化全能性 ストレス

## 1. 研究開始当初の背景

一つの細胞が、体を構成する全ての細胞に変化できる潜在能力を分化全能性という。多細胞生物の体が作られる過程では、分化全能性を持った受精卵が細胞分裂と細胞分化を繰り返し、最終的に特殊な構造と生理機能を持ったさまざまな細胞となる。多岐にわたる機能を有した体を維持するためには、分化が完了し役割を担った細胞をその状態に留めておかななくてはならない。一方、植物が高い再生能力を有していることは古くから知られている。挿し木などで行われている組織レベルの話だけでなく、分化が完了した1つの細胞からでも多能性を有した細胞塊(カルス)を経由して個体を再生できる。これは植物細胞が様々な刺激に応じて脱分化し分化全能性を発揮できることを示しており、現在でも、優良品種の量産や品種改良などは、この能力に基づいた技術で行われ、種苗・育種産業の基盤となっている。他生物との比較から、植物細胞の分化全能性はしばしば植物を特徴づける性質と考えられている。植物において分化状態の打破や再生能の獲得はどのような分子メカニズムでなされているのだろうか？研究代表者らのこれまでの研究から、傷害や種々のストレスで発現が促進しカルス化や再生を誘導するスイッチ因子(転写因子)が存在することや、分化した細胞には、それらのスイッチ因子の遺伝子発現を抑制させる機構(クロマチン修飾を介したエピジェネティック制御)があることが明らかになってきた。

## 2. 研究の目的

研究代表者らの研究を含めた種々の先行研究から、様々なストレスと脱分化・再分化促進因子の発現が互いに関与することが予想された。本研究では、植物のストレス誘導性の分化全能性・多能性発揮には種々のエピゲノムの変化や代謝産物の変化が伴うという仮説のもと、1. 種々のストレスがヒストン修飾の変化を誘導し、クロマチン構造を変化させて脱分化関連転写因子の発現を促進する。2. ストレス誘導性の転写因子によってクロマチン構造が変化し、種々の脱分化関連因子の発現が促進する。という2点について検証した。

## 3. 研究の方法

ストレス因子として傷害ストレスに着目する。植物の組織に傷を与えた後、ヒストン修飾の変化が関与しているかを具体的に明らかにするため、種々のヒストン修飾を認識する抗体(H3K27me3, H3K4me3, H3K27Ac 等)を用いた ChIP 解析を行う。マスター転写因子としては WIND1 について検討する。ヒストン修飾因子等、エピゲノム変化を起こすことが考えられるタンパク質が WIND1 と結合するかについて Yeast two-hybrid(Y2H)法等によって確認する。

## 4. 研究成果

シロイヌナズナ植物体をカミソリで切断し、傷害ストレスを与えた後にどのようなヒストン修飾の変化が起こるかを ChIP 解析により組織レベルで捉えることができた。ヒストン H3 テールの 27 番目のリジンがトリメチル修飾(H3K27me3)を受けると閉じたクロマチン状態になり、近傍の遺伝子発現が抑えられる。この修飾酵素を担うタンパク質複合体の機能欠損変異体では、一度分化した植物細胞が脱分化し、カルス化や不定胚の再分化を示すことが、研究代表者らのこれまでの研究から明らかになっている。そのため、傷を受けた植物組織でも H3K27me3 修飾が減少することで脱分化や再分化が起きることが予想された。予備的な試験から、H3K27me3 修飾を受けていることが既に報告されている複数の傷害誘導性遺伝子のゲノム領域に対し ChIP-qPCR を行ったところ、予想に反し、傷害ストレスを与えた後も H3K27me3 マークの顕著な減少は見られなかった。そこで国内外の共同研究により ChIP-seq 解析法によって経時的かつ網羅的にヒストン修飾を捉えることにした。この結果、傷害ストレス処理後、6 時間までの間では、H3K27me3 修飾の減少よりも、ヒストン H3 のアセチル(Ac)化(H3K14Ac など)が有意に促進することが明らかになった。多くの傷害誘導性遺伝子では、ヒストン H3 のアセチル化レベルが上がっており、実際、ヒストンアセチル化阻害剤を添加した組織では、傷害誘導性遺伝子の発現が抑えられ、傷口のカルス化や、組織培養条件下での茎葉の再分化等が抑制された。これらの結果から、傷害ストレスによる脱分化や再分化には、ヒストンのアセチル化レベルの変化が重要であることが明らかになった(投稿中)。現在、細胞レベルでの変化を捉える実験を遂行中である。また、引き続き WIND1 発現誘導時にどのようなヒストン修飾の変化がおきるかについてや WIND1 と相互作用を示すタンパク質にエピジェネティック関連因子が含まれるかについても調査している。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者は下線)

(雑誌論文)(計 4 件)

Akira Iwase, Kento Mita, David S.Favero, Nobutaka Mitsuda, Ryosuke Sasaki, Makoto Kobayashi, Yumiko Takebayashi, Mikiko Kojima, Miyako Kusano, Akira Oikawa, Hitoshi Sakakibara, Kazuki Saito, Jun Imamura, Keiko Sugimoto (2018) WIND1 induces dynamic metabolomic reprogramming during regeneration in *Brassica napus*. *Developmental Biology* 442, 40-52. 査読有

Momoko Ikeuchi, Akira Iwase, Bart Rymen, Alice Lambomez, Mikiko Kojima, Yumiko Takebayashi, Jefri Heyman, Shunsuke Watanabe, Mitsunori Seo, Lieven de Veylder, Hitoshi Sakakibara, and

Keiko Sugimoto (2017) Wounding triggers callus formation via dynamic hormonal and transcriptional changes. *Plant Physiology* 175, 1158-1174. 査読有

Bart Rymen, Ayako Kawamura, Sabine Schaefer, Christian Breuer, Akira Iwase, Michitaro Shibata, Miho Ikeda, Nobutaka Mitsuda, Csaba Koncz, Masaru Ohme-Takagi, Minami Matsui, Keiko Sugimoto (2017) ABA suppresses root hair growth via OBP4 transcriptional-regulator repression of the RSL2 promoter. *Plant Physiology* 173, 1750-1762. 査読有

Akira Iwase, Hirofumi Harashima Momoko Ikeuchi, Bart Rymen, Mariko Ohnuma, Shinichiro Komaki, Kengo Morohashi, Tetsuya Kurata, Masaru Nakata, Masaru Ohme-Takagi, Erich Grotewold and Keiko Sugimoto (2017) WIND1 Promotes Shoot Regeneration through Transcriptional Activation of ENHANCER OF SHOOT REGENERATION1 in Arabidopsis. *The Plant Cell* 29, 54-69. 査読有

[学会発表] (計 8 件)

Akira Iwase, Bart Rymen, Momoko Ikeuchi, Hui Lan, Marie Pireyre, Takamasa Suzuki, Nobutaka Mitsuda, Katja Jaeger and Keiko Sugimoto. Wound-induced cellular reprogramming in Arabidopsis. Bilateral Closure Symposium of GDRI Integrative Plant Biology Network "The developing plant in its environment". 2017年10月24日

岩瀬 哲, 光田展隆, 池内桃子, 鈴木孝征, 杉本慶子. WIND1 転写因子の下流分子ネットワーク解析. 日本植物学会 第81回大会 2017年9月8日

Akira Iwase. Stress-induced plant cell reprogramming: Accelerators and brakes for regeneration. Seminar at Institut Jean-Pierre Bourgin, INRA Versailles-Grignon 2017年6月26日

Akira Iwase. Stress-induced plant cell reprogramming: Accelerators and brakes for regeneration. Seminar at Royal Holloway University of London. 2017年3月22日

Akira Iwase. Stress-induced plant cell reprogramming: Accelerators and brakes for regeneration. Seminar at ENS-Lyon. 2017年3月20日

Akira Iwase. Stress-induced plant cell reprogramming: Accelerators and brakes for regeneration. Max Planck Institute Special Seminar. 2017年2月24日

Akira Iwase, Nobutaka Mitsuda, Kengo Morohashi, Takamasa Suzuki, Hirofumi Harashima, Momoko Ikeuchi, Bart Rymen, Erich Grotewold and Keiko Sugimoto. WIND1-induced cellular reprogramming in Arabidopsis. Cold Spring Harbor Asia, Latest Advances in Plant Development & Environmental Response 2016年12月1日

岩瀬 哲, 池内桃子, 杉本慶子. ストレスで誘起される細胞リプログラミングの分子機構. 日本植物学会第80回大会シンポジウム Induced Development: 環境要因に誘発される発生の多様性と共通性. 2016年9月16日

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年:

国内外の別:

○取得状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類：  
番号：  
取得年：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

植物が傷口で茎葉を再生させる仕組み - 組織培養による植物の量産や有用物質生産 に期待-  
[http://www.riken.jp/pr/press/2017/20170117\\_2/](http://www.riken.jp/pr/press/2017/20170117_2/)

How Plants shoot back  
<http://www.riken.jp/en/research/rikenresearch/highlights/8342/>

環境記憶統合 注目の論文 「傷口から蘇る～カルス形成から茎葉再分化への分子カスケード」  
<https://www.rs.tus.ac.jp/plantmemory/research-achievement/paper/no11.html>

## 6. 研究組織

研究協力者  
研究協力者氏名：  
ローマ字氏名：

〔主たる渡航先の主たる海外共同研究者〕

研究協力者氏名：フランソワ ルディエ  
ローマ字氏名：François Roudier  
所属研究機関名：École normale supérieure  
部局名：Institut de Biologie de l'École Normale Supérieure  
職名：教授

〔その他の研究協力者〕  
研究協力者氏名：  
ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。