

科学研究費助成事業（基盤研究（S））公表用資料
〔平成31年度（2019年度）研究進捗評価用〕

平成28年度採択分
平成31年3月8日現在

維管束幹細胞の多分化能の分子基盤

Molecular basis of pluripotency of vascular stem cells

課題番号：16H06377

福田 裕穂 (FUKUDA, HIROO)

東京大学・大学院理学系研究科・教授



研究の概要（4行以内）

多細胞生物は多様な細胞が時空間の厳密な制御のもとに作られ、それらが密に関連して個体としての機能を果たす。私たちは、この多様な細胞の成立の仕組みを理解するために、植物の維管束幹細胞をモデルに、その確立機構、維管束幹細胞から篩部・木部細胞への分化機構、およびそのスイッチング機構を解析し、植物幹細胞のもつ多分化能の分子基盤の実態に迫った。

研究分野：生物学

キーワード：維管束、植物分子機能、幹細胞、多分化能

1. 研究開始当初の背景

多細胞生物は多様な細胞が時空間の厳密な制御のもとに作られ、それらが互いに関連して個体としての機能を果たす。一方で、多様な細胞は継続的に作りだされる必要があり、この継続的に多様な細胞の供給を支えるのが、幹細胞システムである。しかし、動植物で同じ言葉で表現される幹細胞であるが、植物の幹細胞の発生運命決定の仕組みについては、共通性や違いを比較できるほどには、その分子基盤が明らかにされていない。

2. 研究の目的

私たちは、維管束幹細胞をモデルに植物幹細胞の発生運命の研究をおこない、これまでに、新規ペプチド TDIF の発見に続き、その下流のシグナルネットワークの一端を明らかにした。そして、このシグナルネットワークが維管束幹細胞の維持と木部・篩部への分化の中心的役割を担うことを明らかにした。そこで、本研究では、このシグナルネットワークを中心に維管束幹細胞の発生運命の研究をおこない、植物における幹細胞の分子基盤を明らかにする。

3. 研究の方法

私たちが開発した VISUAL 系を主として用いて、①維管束幹細胞の確立機構、②篩部・木部細胞分化の分化機構、③維管束幹細胞からの木部・篩部細胞分化のスイッチング機構を解明し、維管束幹細胞の分子基盤の実態に迫る（図1）。

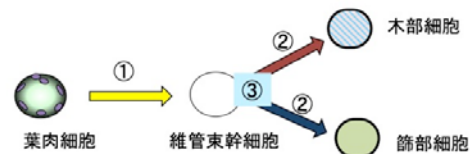


図1:本研究で対象とした維管束幹細胞の分化過程

4. これまでの成果

①維管束幹細胞の確立機構

VISUAL系を用いて、光による維管束幹細胞分化誘導機構を解析した。その結果、ジベレリンが光の代替をすることが明らかになった、しかしながら、光によりジベレリン量の増加もジベレリン合成遺伝子の転写の上昇も見られないことが明らかになった。さらに、分解抑制型のDELLAタンパク質の導入実験、遺伝子発現の網羅的解析から、光はDELLA遺伝子の発現抑制を介して維管束幹細胞の確立に働くことが示された。

②篩部・木部細胞分化の分化機構

1) PDF1 の機能解析

篩部細胞分化過程初期に発現する転写因子PDF1 の機能を解析し、PDF1 が篩部細胞分化のリプレッサーとして働き、篩部分化を抑制していることが明らかとなった。

2) マスター遺伝子の発現制御

シロイヌナズナ培養細胞を用いて解析し、新規のLBD15 転写因子を発見した。そして、

木部細胞分化のマスター遺伝子 *VND7* と *LBD15* の間で相互に遺伝子発現を促進する働きがあり、この正のフィードバック機構により、発現が閾値を超えた細胞が不可逆的に木部細胞へと分化するとの仮説を発表した。

③維管束幹細胞からの木部・篩部細胞分化のスイッチング機構

1) BES1 サブファミリーメンバーの機能

BES1 は維管束幹細胞から篩部細胞分化と木部細胞分化を共に促進する。そこで、BES1 サブファミリーの6種(図2)の機能を遺伝学的に解析した。2種のT-DNAの挿入による機能欠損型変異体を

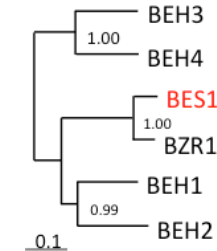


図2: BES1サブファミリー

入手し、その他、BES1 に最も類似したBZR1 を含む残り3種の機能欠損型変異体をCRISPR/Cas9系を用いて作成した。これを用いて様々な組合せの2重変異体を作成した。1重、2重変異体をVISUAL系で調べたところ、BES1 とそれより弱いもののBZR1 が冗長的に篩部細胞分化、木部細胞分化の両方の促進に働くことが明らかとなった。しかし、木部細胞分化あるいは篩部細胞分化の片方に特異的に働くBES1サブファミリーメンバーはなかった。

2) ケミカルスクリーニング

篩部要素特異的な遺伝子プロモーターpSEOR1 と管状要素特異的なプロモーターpIRX3 を蛍光、発光マーカーに繋いだコンストラクトを併せ持つ植物体を作成した。この植物体のVISUAL系を用いて、篩部要素/管状要素比を変える化合物をケミカルスクリーニングにより探索し、いくつかの候補を見いだした。

3) 維管束幹細胞の1細胞レベルでの遺伝子発現

初期木部分化特異的なATHB8のプロモーターをELUCにつないだコンストラクトを持つシロイヌナズナ植物を作成した。さらにこの植物体をVISUAL系に適用し、発光顕微鏡を用いることで、連続的に1細胞レベルでの遺伝子発現を観察できるシステムを構築した。これを用いて観察したところ、1細胞レベルではATHB8の発現は一過的であること、ATHB8発現細胞の全てが木部細胞へと分化するものではないことが示された。

5. 今後の計画

①維管束幹細胞の確立機構については、bHLH及びAtHB8転写因子とオーキシンの関与について、分子生物学的かつ遺伝学的に解析を進める。

②篩部・木部細胞分化の分化機構については、篩部を構成する篩管要素、伴細胞の分化のスイッチ機構について解析する。

③維管束幹細胞からの木部・篩部細胞分化のスイッチング機構については、以下の解析を進める。

1) これまでに確立した発光を用いた1細胞レベルでの遺伝子発現解析をもとに木部・篩部細胞分化の揺らぎとその決定機構について解析を進める。

2) bes1 変異体の復帰突然変異体の解析からBES1 遺伝子の下流因子を同定する。

6. これまでの発表論文等(受賞等も含む)

【主な発表論文】

1) Sugiyama, Y., Nagashima, Y., Wakazaki, M., Sato, M., Toyooka, K., Fukuda, H., and Oda, Y.: A Rho-actin signaling pathway shapes cell wall boundaries in *Arabidopsis* xylem vessels. **Nature Com.** 10, Article number 468, 2019.

2) Yamazaki, K., Kondo, Y., Kojima, M., Takebayashi, Y., Sakakibara, H. and Fukuda, H.: Suppression of DELLA signaling induces procambial cell formation in culture. **Plant J.** 94: 48-59, 2018.

3) Takahashi, F., Suzuki, T., Osakabe, Y., Betsuyaku, S., Kondo, Y., Domae, N., Fukuda, H., Yamaguchi-Shinozaki, K. and Shinozaki K.: A small peptide modulates stomatal control via abscisic acid in long distance signalling. **Nature** 556, 235-238, 2018.

4) Saito, M., Kondo, Y. and Fukuda, H.: BES1 and BZR1 Redundantly Promote Phloem and Xylem Differentiation. **Plant Cell Physiol.** 59: 590-600, 2018.

5) Ohashi-Ito, K., Iwamoto, K. and Fukuda, H.: LOB DOMAIN-CONTAINING PROTEIN 15 positively regulates expression of *VND7*, a master regulator of tracheary elements. **Plant Cell Physiol.** 59: 989-996, 2018.

【受賞】

・ Clarivate Analytics Highly Cited Researchers 2016 (2017.1 月)、2017 (2017.11 月)、2018 (2018.11 月)

・ Corresponding Membership Awards for 2018 (American Society for Plant Biologists: 2018.6 月)

7. ホームページ等

<http://www.bs.s.u-tokyo.ac.jp/~seigo/>