

令和 4 年 6 月 15 日現在

機関番号：14603

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K06722

研究課題名（和文）植物細胞系譜の多様性を生み出す転写ネットワークの分子メカニズム

研究課題名（英文）Transcriptional network for the differentiation of idioblast

研究代表者

白川 一（Shirakawa, Makoto）

奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・助教

研究者番号：70636969

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、植物が環境に適応するために生み出した異型細胞の分化の分子ネットワークの解明を目的とした研究である。植物のガス交換を担う孔辺細胞と生体防御に働くミロシン細胞の分化に着目し、転写因子とその抑制因子の転写レベルとタンパク質レベルの階層的なネットワーク構造の一部を解明した研究である。将来的には、植物細胞の運命決定を制御する技術の開発につながると期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、植物が環境に適応するために生み出した特殊な細胞を作り仕組みに遺伝子レベルで迫ったものである。対象としたのは光合成に必要なガスを植物内にとりこむ気孔とアブラナ科植物の辛み成分を生み出すミロシン細胞である。本研究が発展することで、これらの植物細胞の運命決定を制御する技術の開発につながり、病害虫に強い植物やバイオマスの増産につながると期待される。

研究成果の概要（英文）：In this study, we focused the transcriptional network for the development of myrosin cells and guard cells. Myrosin cells are Brassicales-specific idioblasts and guard cells are idioblasts in epidermis. We isolated some downstream targets of bHLH TF, FAMA and SCRM, which are master regulator for the development of myrosin cells and guard cells. And we analyzed functions of these factors by genetic, biochemical, and imaging approaches.

研究分野：植物分子生物学

キーワード：植物分子遺伝学 細胞分化 転写因子 遺伝子ネットワーク

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

生物は、高度に特殊化した細胞を分化させ、それらを秩序立って組み合わせることで生存戦略を発展させてきた。進化の過程で生物が新しい細胞系譜を生み出した分子基盤を理解する必要がある。その分子メカニズムの一つとして遺伝子機能の転用や遺伝子重複とそれに伴う遺伝子の新機能獲得 (Neofunctionalization) が考えられているが、遺伝子機能の変化と細胞種の多様化の因果関係は不明な点が多い (図 1)。

研究代表者は、これまでに植物の特殊化した二つの細胞をモデルに、マスター転写因子の機能解析を行ってきた。一つは、孔辺細胞で、basic helix-loop-helix (bHLH)型転写因子である3つの姉妹転写因子 SPEECHLESS(SPCH), MUTE, FAMA が順番に働くことで分化が促進されることが知られている。もう一つはミロシン細胞で、FAMA がその分化を正に制御していることが知られている。ミロシン細胞はアブラナ科特異的な細胞であるため、進化の過程で FAMA の転用が起きたと考えられる。SPCH, MUTE, FAMA はそれぞれ、別のサブファミリーに属する bHLH 型転写因子 SCREAM(SCRM)と SCRM2 と相互作用して、ヘテロ二量体として働くことが知られている。研究代表者は、特に、bHLH 型転写因子 FAMA と SCREAM (SCRM) によるミロシン細胞と孔辺細胞の作り分けに着目し、その分子メカニズムの解析を行ってきた。その過程で、相同性の高い bHLH/HLH 因子群が、転用の階層性を作りながら、細胞種特異的な遺伝子発現を行っている可能性を見出した。

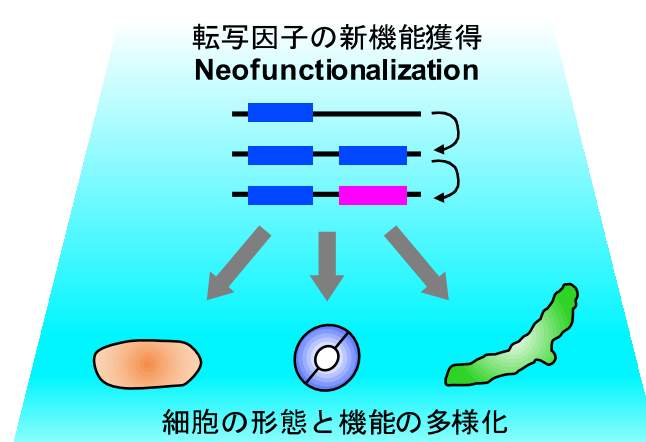


図 1. 本研究課題の核心となる「問い」
マスター転写因子の新機能獲得によって、遺伝子ネットワークが多様化し、新しい細胞タイプを獲得したと考えられている。

2. 研究の目的

本研究では、植物の2つの高度に特殊化した細胞をモデルに、転写因子ネットワークの変換による細胞系譜の進化メカニズムの解明を目的とした。

本研究では、水分蒸散とガス交換に働く表皮の孔辺細胞 (気孔) と、生体防御に働くミロシン細胞を扱った。ミロシン細胞はアブラナ科に特異的な細胞で、その液胞にミロシナーゼを蓄積し、忌避物質イソチオシアネートを生成することで生体防御に働く。これまでに、bHLH 型転写因子 FAMA と SCRM のヘテロ複合体 (FAMA-SCRM 複合体) が孔辺細胞とミロシン細胞分化に共通のマスター転写因子であることが明らかにされている。これは、転写因子の転用による細胞系譜の進化と考えられたが、それぞれの細胞に特異的な性質を付与する分子メカニズムは不明であった。研究代表者は、helix-loop-helix (HLH)型因子の発見を経て、FAMA-SCRM 複合体の転用だけでなく、より高度なネットワークの進化が起こっている可能性を見出した。そこで、本研究では、相同性の高い bHLH/HLH 因子群の解析を通して、細胞種特異的な遺伝子発現を行っている可能性を検証した。

3. 研究の方法

研究代表者が同定した HLH 型因子の機能を明らかにするために、モデル植物シロイヌナズナを用いて遺伝学・生化学・イメージング解析を行なった。

4. 研究成果

(1) HLH の同定

FAMA-SCRM 複合体の下流因子として、HLH 因子を3分子種同定した。HLH 因子のアミノ酸配列は、SCRM の HLH 領域とアミノ酸配列の相同性が高いことを発見した。加えて、HLH 因子は DNA 結合ドメインである basic ドメインをほぼ完全に欠失しており、転写因子としては機能しないことが示唆された。

(2) HLH と FAMA-SCRM の相互作用の検討

HLH 因子のアミノ酸配列が、SCRM の HLH 領域とアミノ酸配列の相同性が高いことから、FAMA-HLH と SCRM-HLH の相互作用の可能性を BiFC 法により検証した。SCRM-HLH の組み合わせでは、核で YFP の明瞭な蛍光が観察され、相互作用する可能性が示唆された。一方、FAMA-HLH の組み合わせでは、YFP 蛍光が観察されず、相互作用しないと考えられた。以上の結果から、SCRM-HLH 複合体が核に局在することが示唆された。

(3) HLHの機能の遺伝学的解析

HLH 因子の 1 つを 35S プロモーターにて過剰発現させる形質転換植物 *p35S:HLH1* を作製した。*p35S:HLH1* は弱い生育の遅延を示し、それは *scrm* の変異体と類似していた。そこで、ミロシン細胞の分化マーカーであるミロシナーゼの蓄積量を Immunoblot にて調べたところ、蓄積の減少がみられ、ミロシン細胞の分化が抑制されている可能性が示唆された。さらに、葉の表面の気孔の観察をしたところ、成熟した孔辺細胞の数が低下しており、加えて、*fama* の弱い変異体や *scrm* 変異体で見られるような 3 つの孔辺細胞からなる異常な気孔ユニットも観察された。以上の結果から、*p35S:HLH1* は、*fama* の弱い変異体や *scrm* 変異体と同様の表現型を示すことがわかった。SCRM-HLH 複合体の形成と HLH 因子が DNA 結合ドメインを持たないことから、*HLH1* の過剰発現により SCRM-HLH 複合体が過剰に形成され、FAMA-SCRM 複合体の形成が阻害されることで、*fama* の弱い変異体や *scrm* 変異体と同様の表現型を示したと推測された。

(4) HLHの植物体における発現部位

HLH の発現部位を調べるために、*HLH1* のプロモーター-GUS ラインと *HLH1/2* の GFP transcriptional fusion line を作製した。GUS と 3xGFP のどちらをレポーターに用いた場合でも、レポーターの発現は植物体全身で観察され、*HLH* がミロシン細胞と孔辺細胞だけでなく、他の細胞でも発現することが明らかとなった。次に、*HLH1/2* の GFP/RFP translational fusion line を作製し、蛍光観察を行なったが、明確なシグナルを検出することはできず、タンパク質レベルでの不安定性や急速なターンオーバーの可能性が示唆された。

まとめ

本研究では、FAMA-SCRM の下流因子として *HLH* 因子を同定した。*HLH* は SCRM と結合すると考えられ、加えて basic ドメインを欠くことから、*HLH-SCRM* は転写因子としての機能のない複合体であると考えられた。このことから、*HLH-SCRM* は FAMA-SCRM に対して拮抗的に作用すると予想され、確かに *HLH* を過剰発現した形質転換体では、2 つの異型細胞の分化が抑制される結果が得られた。興味深いことに、*HLH* 因子は植物体全体で発現することが明らかとなり、異型細胞系列での機能に加えて、それ以外の細胞ではストレスなどによって FAMA-SCRM が異所的に発現した際にその働きを抑えるセーフガードとして働くことが示唆された。本研究成果は、これまで複数の転写因子が、順番に発現を正に制御することで実行される細胞分化のプログラムに対して、負の制御系が存在することを示唆する成果であり、細胞分化の厳密な制御における精緻な分子メカニズムの一旦を解明した研究と位置付けられる。今後は、*HLH* 遺伝子の変異体の詳細な解析や、*SCRM* と *HLH* の同時過剰発現体などの解析をすることで予測された分子モデルの妥当性を詳細に検証する必要がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Makoto Shirakawa, Toshiro Ito
2. 発表標題 Transcriptional Atlas of Idioblast Myrosin Cells; A Factory for the Mustard Oil Bomb
3. 学会等名 第61回日本植物生理学会年会（招待講演）
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	鳥居 啓子 (Torii Keiko) (60506103)	名古屋大学・トランスフォーマティブ生命分子研究所・客員教授 (13901)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------