

平成23年 4 月 13 日現在

機関番号： 82401

研究種目： 若手研究(A)

研究期間： 2008～2010

課題番号： 20687004

研究課題名(和文)

植物の器官サイズを決定する制御メカニズムの分子遺伝学的解析

研究課題名(英文) Molecular genetic analysis of plant organ size control

研究代表者

杉本 慶子 (SUGIMOTO KEIKO)

独立行政法人理化学研究所・細胞機能研究ユニット・ユニットリーダー

研究者番号： 30455349

研究成果の概要(和文)：

生物界において個体、器官、組織、細胞などのサイズがいかにかに決定されるかという問題は基礎、応用研究上非常に重要であるが、その制御機構は解明されていない。本研究はこの問題を特に植物の器官サイズ制御の視点から明らかにすることを目的とした。シロイヌナズナの突然変異体を用いて細胞増殖、細胞伸長、細胞分化に関与する遺伝子群を同定し、それらの機能解析を通じて高等植物の器官サイズを制御する分子機構の一端を解明した。

研究成果の概要(英文)：

What controls size is an important question in both basic and applied biology but the intrinsic mechanism mediating this control is not well understood. In this study, we aimed at unraveling the molecular mechanism controlling organ size in plants. Using Arabidopsis as a model system, we identified novel genes regulating cell proliferation, cell expansion and cell differentiation, and provided new molecular insights into how plants control organ size through modulating these cellular processes.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	10,700,000	3,210,000	13,910,000
2009年度	5,500,000	1,650,000	7,150,000
2010年度	3,800,000	1,140,000	4,940,000
年度			
年度			
総計	20,000,000	6,000,000	26,000,000

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：サイズ制御、細胞増殖、細胞伸長、細胞分化、シロイヌナズナ

1. 研究開始当初の背景

植物の器官サイズは遺伝的なプログラムによって規定されており、同一種の植物の葉や花、種子などの器官サイズはほぼ一定である。一方、植物の器官生長は栄養、温度、光といった生育条件にも依存するため、これらの環境

情報もそれぞれの器官が最終的に達するサイズに影響する。器官サイズは器官の構成要素である細胞の増殖による細胞数の増加と、細胞の伸長や分化によるサイズ拡大によって増大する。上述の遺伝情報や環境情報は細胞の増殖や伸長、また分化の制御を通して器官の最終的なサイズの決定に関

与すると考えられるが、実際の制御因子の実体やそれらの作用機構についてはまだよく分かっていなかった。

2. 研究の目的

本研究では植物の器官サイズ決定に関わる制御ネットワークの全体像を明らかにすることを目的とした。特に細胞の増殖、伸長、分化に関与する新規制御因子を同定し、その分子機構の解明を目指した。

3. 研究の方法

シロイヌナズナの gain-of-function 変異体である FOX ラインのコレクションや EMS 処理した loss-of-function 変異体コレクションを用いて、器官サイズに異常をもつ突然変異体スクリーニングを行い、各種の新規変異体を単離した。原因遺伝子の機能解析を行い、これらの遺伝子によってコードされるタンパク質がいかにか細胞内プロセスを制御するかを検討した。

4. 研究成果

- ① SUMO E3 ligase をコードする HPY2 は細胞増殖を制御する。

多くの植物細胞は生長過程において DNA 複製と細胞分裂が交互に起きる細胞分裂周期 (Mitotic cell cycle) を経た後、細胞分裂を伴わず DNA 複製のみ起こる核内倍加周期 (Endocycle) へと移行する。こうした核内倍加周期への移行は細胞が最終的な分化や伸長生長を開始する時期に起きることが知られ、植物の器官成長を制御する重要な過程であるが、この移行がどのように制御されているかは分かっていない。私たちは核に局在する HIGH PLOIDY2 (HPY2) という SUMO E3 ligase がシロイヌナズナのメリステムにおいて核内倍加周期への移行を抑制していることを解明した。HPY2 の機能を欠損した *hpy2* 変異体ではメリステム細胞が通常よりも早く核内倍加周期に移行してしまうため、メリステムが維持されず植物体全体が極度に矮小化してしまう。HPY2 タンパク質には SUMO E3 ligase の機能ドメインである SP-RING ドメインが保存されているが、このドメインが *in vivo* 及び *in vitro* での HPY2 の機能に必要とされることが明らかになった。また、HPY2 タンパク質は主にメリステムの分裂細胞で発現しており、HPY2 はメリステムのパターン形成に関与する転写因子 PLETHORA1 (PLT1) 及び PLT2 の下流で機能する。これらの結果から、HPY2 による SUMO 化翻訳後修飾機構が、PLT 依存的なシグナル経路を介して細胞周期の転換過程を制御することが明らかになった。

- ② 植物特有の転写因子 GTL1 は細胞伸長を負に制御する。

トライコームは植物の葉や茎の表面に形成される突起状の構造物であり、中でもシロイヌナズナの葉のトライコームは単一の細胞で構成される特異な細胞で古典的な細胞分化と形態形成のモデルシステムとして盛んに研究がおこなわれている。近年の研究から、初期の分化過程を制御する転写因子がいくつも同定されてきたが、これらの因子がその後の急速な細胞生長や分岐過程をいかに制御するかについてはほとんど明らかとされていない。私たちはシロイヌナズナの gain-of-function 変異体のスクリーニングから、トライコームの初期分化や分岐過程には異常がなく、細胞生長だけが野生型レベルを超えて昂進される新規突然変異体を発見した。この変異体の原因遺伝子はトライヘリック型転写因子である GT-2-LIKE1 (GTL1) をコードする。GTL1 はトライコーム細胞が核内倍加を終了し、最終的な大きさに達する時期に発現するが、GTL1 の機能を欠損した *gtl1* 変異体では分岐を終了した細胞で核内倍加が正常に終了せず、核相が野生型よりも上昇し、巨大なトライコームを形成する。また *gtl1* 変異体では核内倍加周期制御に関連する細胞周期遺伝子の発現に異常がみられ、核内倍加が抑制される *siamese (sim)* 変異体との二重変異体では *sim* の表現型を部分的に回復させる。これらの結果から、GTL1 は核相依存的な植物細胞の伸長を積極的な転写制御を介して調節していることが明らかになった。また GTL1 がトライコーム以外の多くの細胞でも発現することから、こうした細胞伸長の制御メカニズムが植物細胞一般に作用する可能性が示唆された。

- ③ PIZZA はブラシノステロイドを修飾することによって器官サイズを制御する。

本研究では私たちがこれまでに単離した gain-of-function 突然変異体のうち、*pizza-D* 変異体についての解析を行った。*pizza-D* は野生型に比べて葉、花を始めとする全ての器官がすべて矮化する。*pizza-D* の本葉の細胞サイズや核内倍加レベルは野生型に比べてほとんど変化がみられないため、*pizza-D* の矮化は細胞増殖能の低下により器官の構成細胞の数が減少することが原因であると考えられる。私たちはこうした *pizza* の表現型が植物ホルモンの一種であるブラシノステロイドによって相補されること、また PIZZA が新規酵素をコードしていることを突き止め、これらの結果をもとに、PIZZA が *in vivo* でブラシノステロイドの合成もしくは代謝に関与するという仮説を立てた。この可能性を検証するため、LC-MS を用いた *pizza-D* のホルモン定量分析を行い、PIZZA の発現量とブラシノステロイドの蓄積量の関係を調べた。さらに PIZZA の植物体内での発現パターンや loss-of-function 変異体の解析、また *in vitro* での酵素活性解析を進めた。これらの結果から、植物体内のブラシノステロイド量を調節す

る新規メカニズムが存在すること、またこの機構が器官サイズ制御に重要であることが示された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 7 件) 全て査読あり

- ① Iwase A, Mitsuda N, Koyama T, Hiratsu K, Kojima M, Arai T, Inoue Y, Seki M, Sakakibara H, Sugimoto K*, and Ohme-Takagi M*. The AP2/ERF transcription factor WIND1 controls cell dedifferentiation in *Arabidopsis*. *Curr Biol* 21: 508-514 (2011)
* co-corresponding author
- ② Breuer C, Ishida T, and Sugimoto K. Developmental control of endocycles and cell growth in plants. *Curr Opin in Plant Biol*, 13, 654-660. (2010)
- ③ Ishida, T., Adachi, S., Yoshimura, M., Shimizu, K., Umeda, M. and Sugimoto, K. Auxin modulates the transition from the mitotic cycle to the endocycle in *Arabidopsis*. *Development* 137: 63-71. (2010)
- ④ Evans-Roberts K, Breuer C, Wall M, Sugimoto-Shirasu K, and Maxwell A. *Arabidopsis thaliana* GYRB3 does not encode a DNA gyrase subunit. *PLoS ONE* 5e9899. (2010)
- ⑤ Kuroha T, Tokunaga H, Kojima M, Umeda N, Ishida T, Nagawa S, Fukuda H, Sugimoto K, Sakakibara H. Functional analyses of the *Arabidopsis* LONELY GUY family encoding cytokinin-activating enzymes reveal the importance of the direct activation pathway in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 21: 3152-3169. (2009)
- ⑥ Breuer C, Kawamura A, Ichikawa T, Tominaga-Wada R, Wada T, Kondou Y, Muto Y, Matsui M, and Sugimoto K. The trihelix transcription factor AtGTL1 controls ploidy-dependent cell growth in the *Arabidopsis* trichome. *Plant Cell* 21: 2307-2322. (2009)
- ⑦ Ishida T, Fujiwara S, Miura K, Stacey N, Yoshimura M, Schneider K, Adachi S, Minamisawa K, Umeda M, and Sugimoto K. SUMO E3 ligase HIGH PLOIDY 2 regulates endocycle onset and meristem maintenance in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 21: 2284-2297. (2009)

[学会発表] (計 26 件)

- ① 久永哲也、FERJANI Ali、堀口吾朗、石田喬志、杉本慶子、塚谷 裕一、DNA 損傷応答が fugu2 の補償作用に果たす役割 第52回日本植物生理学会年会 仙台市 2011年3月20日
- ② 石田喬志、吉村美香、杉本慶子:新規 SUMO E3 ligase HIGH PLOIDY 2 の分裂組織における機能の解析 第52回日本植物生理学会年会 仙台市 2011年3月20日
- ③ 岩瀬哲、杉本慶子、高木優:転写因子 WIND1 は植物細胞の脱分化を制御する 第52回日本植物生理学会年会シンポジウム「オーキシン研究の新展開」仙台市 2011年3月20日
- ④ 石田喬志、安達澄子、吉村美香、清水皓平、梅田正明、杉本慶子:オーキシン依存的な細胞分裂周期と核内倍加周期の切り替えによる細胞分化制御 日本植物学会第74回大会 春日井市 2010年9月9日
- ⑤ Keiko Sugimoto, Takashi Ishida, Christian Breuer, Ayako Kawamura, Mika Yoshimura. More cell or more cycle? Endocycle control in plant development. 21st International Conference on Arabidopsis Research, Yokohama, Japan, June 6-10th 2010.
- ⑥ Christian Breuer, Ayako Kawamura, Takanari Ichikawa, Rumi Tominaga-Wada, Takuji Wada, Youichi Kondou, Shu Muto, Minami Matsui, Keiko Sugimoto. The trihelix transcription factor GTL1 regulates ploidy-dependent cell growth in the Arabidopsis trichome. ICAR - International Conference for Arabidopsis Research, Yokohama, Japan, June 6-10th 2010.
- ⑦ Niinuma Kanae, Breuer Christian, Kawamura Ayako, Sugimoto Keiko. Analysis of new Arabidopsis mutants with altered organ size authors. 21st International Conference on Arabidopsis Research, Yokohama, Japan June 6-10th 2010.
- ⑧ Ishida T, Fujiwara S, Miura K, Stacey N, Yoshimura M, Schneider K, Adachi S, Minamisawa K, Umeda M, and Sugimoto K. SUMO E3 Ligase HIGH PLOIDY2 Regulates Endocycle Onset and Meristem Maintenance in Arabidopsis. 21st International Conference on Arabidopsis Research, Yokohama, Japan, June 6-10th 2010.
- ⑨ Iwase A., Mitsuda N., Koyama K., Hiratsu K, Kojima M., Arai T., Inoue Y., Seki M., Sakakibara H., Sugimoto K. and Ohme-Takagi M. A Wound Responsive Transcription Factor WIND1 Promotes Cell Dedifferentiation in Arabidopsis. 21st International Conference on Arabidopsis Research, Concurrent Session 1: Regeneration Yokohama, Japan, 7th June 2010.
- ⑩ Iwase A., Mitsuda N., Sugimoto K., and

- Ohme-Takagi M. A Wound Responsive Transcription Factor WIND1 Promotes Cell Dedifferentiation in Arabidopsis. Keystone Symposia, Receptors and Signaling in Plant Development and Biotic Interactions. Tahoe City, California, USA, 15th March 2010.
- ⑪ 杉本慶子 日本植物生理学会奨励賞受賞講演、植物の核内倍化とサイズ制御の発生遺伝学的解析、日本植物生理学会年会 熊本市、2010年3月18-20日
- ⑫ 河村彩子, Breuer C, 市川尚斉, 和田るみ, 和田拓治, 近藤陽一, 武藤周, 松井南, 杉本慶子 The Trihelix Transcription Factor GTL1 Regulates Ploidy-Dependent Cell Growth In The Arabidopsis Trichome. 日本植物生理学会年会 熊本市、2010年3月18-20日
- ⑬ 新沼協, Breuer C, 河村彩子, 杉本慶子 シロイナズナにおける新規器官サイズ変異体の解析 日本植物生理学会年会 熊本市、2010年3月18-20日
- ⑭ 石田喬志, 安達澄子, 吉村美香, 清水皓平, 梅田正明, 杉本慶子 オーキシン依存的な細胞分裂周期と核内倍加周期の切り替えによる細胞分化制御 日本植物生理学会年会 熊本市、2010年3月18-20日
- ⑮ Schneider K., Breuer C., 河村彩子, 市川尚斉, 近藤陽一, 松井南, 杉本慶子 PIZZA: A new player in the brassinosteroid metabolism? 日本植物生理学会年会 熊本市、2010年3月18-20日
- ⑯ 石田喬志, 杉本慶子 SUMO E3 ligase HIGH PLOIDY2 regulates endocycle onset and meristem maintenance in Arabidopsis. 日本植物生理学会年会 熊本市、2010年3月18-20日
- ⑰ Breuer C., 河村彩子, 杉本慶子 The trihelix Transcription Factor AtGTL1 Regulates Ploidy-dependent Cell Growth in the Arabidopsis Trichome, 21st International Conference on Arabidopsis Research, Yokohama, Japan June 6-10th 2010.
- ⑱ 石田喬志, 藤原すみれ, Stacey Nicola, 吉村美香, Schneider Katja, 杉本慶子, SUMO E3 Ligase HIGH PLOIDY2 / AtMMS21 Regulates Endocycle Onset and Stem Cell Maintenance in *Arabidopsis*、第32回日本分子生物学会年会 横浜市、2009年12月9-12日
- ⑲ 石田喬志, 藤原すみれ, Schneider Katja, Stacey Nicola, 杉本慶子, 細胞増殖と核内倍加を制御する分子機構の解析、第73回日本植物学会大会、山形市、2009年9月17-20日
- ⑳ Keiko Sugimoto, EMBO conference “Frontiers of Plant Research”, Developmental control of cell size and ploidy in plants, Cadiz (Spain), 2009年5月6-9日
- ㉑ Christian Breuer, 河村彩子, 市川尚斉, 松井南, 杉本慶子, Transcriptional control of cell expansion in the Arabidopsis trichome, 第50回日本植物生理学会年会、名古屋市、2009年3月21-24日
- ㉒ 新沼協, 高瀬将映, 塚谷裕一, 溝口剛, 杉本慶子, 概日時計関連因子多重機能欠損変異体が示す器官サイズ異常の解析、第50回日本植物生理学会年会 名古屋市 2009年3月21-24日
- ㉓ Keiko Sugimoto, Topo2008: DNA Topoisomerases in Biology and Medicine, Functional role of DNA topoisomerase VI in plant development, Norwich (UK), 2008年7月20-24日
- ㉔ Keiko Sugimoto, Japan-Korea Symposium on Plant Growth and Signal Transduction, Genetic control of cell size and ploidy in Arabidopsis, Japan-Korea Symposium, 横浜市、2008年6月9,10日
- ㉕ 黒羽剛, 徳永浩樹, 小嶋美紀子, 上田七重, 石田喬志, 名川信吾, 福田裕穂, 杉本慶子, 榊原均, Functional characterization of cytokinin-activating enzymes in Arabidopsis, 第10回記念植物バイオセミナー、春日井市、2008年10月8日
- ㉖ 石田喬志, Stacey Nicola, 杉本慶子, 新規核相増加変異体を用いた核内倍加抑制機構の解析、日本植物学会第72回大会、高知市、2008年9月24-27日
- [図書] (計3件)
- ① 石田喬志, Chrisitain Breuer, 杉本慶子 核内倍加と細胞成長を規定する発生制御 **科学と生物** in press (2011).
- ② 杉本慶子・石田喬志 (特集 I 植物染色体の最前線) 核内倍加-自発的に倍加してしまう染色体の制御 **生物の科学 遺伝** (2009)
- ③ Yoshizumi T., Breuer C., Minami M., Sugimoto-Shirasu K. (2008) Plant cell growth signalling and its link to ploidy. In The Plant Growth Regulators. Edited by Beemster, G., Bogre, L., Springer, USA, pp. 107-125.
- [その他]
ホームページ等
プレスリリース:
- ① 植物細胞の脱分化を促進するスイッチ因子を発見 (2011年3月11日)
- ② 植物細胞の大きさを調節する新たな遺伝子「GTL1」を発見 (2009年9月1日)

- ③ 細胞分裂の調節に必須の新しい「HPY2」
遺伝子を発見（2009年8月11
日）

6. 研究組織

(1) 研究代表者

杉本 慶子 (SUGIMOTO KEIKO)

独立行政法人理化学研究所・細胞機能研究ユ
ニット・ユニットリーダー

30455349

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者

技術補佐員 吉村美香、毛利真理子、池田智
香