

令和 5 年 6 月 20 日現在

機関番号：14603

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K06712

研究課題名(和文) 傷口の組織治癒を制御するWOX転写因子とペプチドホルモンの機能解析

研究課題名(英文) Functional analyses on WOX transcription factors and peptide hormones in tissue wound repair

研究代表者

池内 桃子 (Ikeuchi, Momoko)

奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・特任准教授

研究者番号：00633570

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,800,000円

研究成果の概要(和文)：植物は高い再生能力を持ち傷口の組織を修復することができる。私はこれまでにWOX13が切断刺激によって発現誘導され、傷口におけるカルス形成と器官の再接着に必要であることを明らかにしてきた。さらに、転写制御因子であるWOX13がどのような標的遺伝子群を制御してカルス形成を司っているのかについて解明を進めてきた。その結果、WOX13は細胞壁を緩ませたり再編成させる活性を持つ酵素の遺伝子群などを制御していることが明らかになった。さらに、WOX13は局所的な切断刺激だけでなく、切断によって引き起こされる長距離シグナルオーキシンの蓄積量変化によっても発現が制御されているという新たな知見を得ることができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

植物の組織修復能力を利用して、苗の接ぎ木が農業や園芸分野で幅広く用いられている。本研究によって組織修復および切断された機関の再接着において重要な制御因子を同定しその機能解析を進められたことにより、接ぎ木メカニズムの一端を明らかにすることができた。将来的には、モデル植物を用いた本研究成果を農作物へ応用することによって、接ぎ木技術の開発につなげられることが期待できる。

研究成果の概要(英文)：Plants can repair damaged tissues via callus formation. We recently identified WOX13 as a key regulator of tissue repair processes. We found that the expression of WOX13 is induced by damage signal. WOX13 in turn induces genes involved in cell wall modification. We also uncovered that auxin-induced expression of WOX13 is responsible for the differential callus formation activity between two opposing ends of the cut organs. Taken together, our studies revealed that organ cutting provokes both local damage signal and the mislocalization of long distance signal, together strongly activate WOX13 to enable efficient tissue repair.

研究分野：植物発生学

キーワード：組織修復 カルス ホメオボックス

### 1. 研究開始当初の背景

植物は高い再生能力を持ち、傷口の組織を修復することができる。特に樹木など寿命の長い植物種にとっては、組織が損傷した箇所に細胞塊であるカルスを作って傷口を塞ぎ、途切れてしまった維管束をつなぎ直せることは重要な生存戦略である。また、植物の組織修復能力に立脚した接ぎ木技術は、異なる有用形質を持った接ぎ穂と台木の合着を可能にしており、植物の組織再生能力はわれわれ人類にとっても非常に大きな意義を持つ。私はこれまでに、モデル植物シロイヌナズナの切口にカルスが形成される実験系を用い、トランスクリプトーム解析などを進めてきた (Ikeuchi et al., 2017)。その中で、切断後速やかに発現誘導される転写因子をコードする遺伝子として、*WUSCHEL-RELATED HOMEODOMAIN 13 (WOX13)* に着目して解析を進めてきた。これまでに *WOX13* が傷ついた組織の修復と切断された器官の再接着に関わることを見出していたが、詳細な機構は不明であった。

### 2. 研究の目的

シロイヌナズナを用いた分子遺伝学的な解析を進めることによって、*WOX13* が植物の組織修復を司る分子制御メカニズムを明らかにすることを本研究の目的とした。具体的には、転写因子である *WOX13* が転写制御を行う標的遺伝子群の解析を進めることによって *WOX13* がどのように組織修復を行っているかを明らかにすることを本研究の目的とした。また、組織修復応答のスイッチとして機能する *WOX13* の発現を制御する機構を解明することも目指した研究を進めることとした。

### 3. 研究の方法

これまでに、傷口にカルスが形成される実験系において、野生型と *wox13* 変異体の遺伝子発現プロファイルを網羅的に比較するトランスクリプトーム解析、および *WOX13* が結合するゲノム領域を特定する ChIP-seq 解析を統合することによって *WOX13* の標的遺伝子候補の絞り込みを進めた。これらの解析によって着目した標的遺伝子候補について、ストックセンターから突然変異体を取り寄せてカルス形成や接ぎ木の表現型を調べることによって、*WOX13* の下流で着目している生命現象に関与しているかどうかを検証することとした。また、*WOX13* の発現誘導機構を明らかにするために、組織修復過程で分布が変化する植物ホルモン群に注目して *WOX13* 発現に対する影響を調べることとした。

### 4. 研究成果

まず研究開始当初に標的遺伝子候補としていたペプチドホルモン A について突然変異体をストックセンターから取り寄せて表現型を調べたり過剰発現体を作成して表現型を解析したが、残念ながらカルス形成との関連性は認められなかった。一方、セルロースの分解酵素や細胞壁の伸展性を制御する遺伝子群について *wox13* 変異体における発現レベルの低下などが認められていたため、カルスを構成する細胞壁に違いが生じているという仮説を立てて検証を進めた。細胞壁を構成する単糖の組成を化学分析によって比較したところ、変異体においてグルコースの相対的な割合が上昇していることが明らかとなり、実際にカルス細胞壁に有意な違いがあることが明らかとなった。これまでの研究成果をまとめて原著論文として報告した (Ikeuchi et al., 2022 Plant Physiology)

さらに、研究を進める中で *WOX13* の発現誘導メカニズムに関して新たな知見を見出すこともできた。これまで *WOX13* は切断刺激によって発現が誘導されることが分かっていたが、切断によって生じた 2 つの切り口でカルス形成の活性が大きく異なることを新たに見出した。局所的に活性化される切断刺激は両方の傷口で同様に活性化されると考えられるため、何らかのシグナルが傷口によって異なるカルス形成を司っているのではないかと考えた。実際に、*WOX13* の発現レベルをリアルタイム PCR および *WOX13*-GFP の観察によって比較したところ、活発にカルスが形成される方の傷口で *WOX13* の発現が持続しておりタンパクが高蓄積していることも見出すことができた。これまでに、オーキシンは器官内を極性輸送されることが知られており、切断によって一方の傷口にせきとめられ濃度が高まると考えられる。そこでオーキシン投与による *WOX13* の発現変化を調べたところ、オーキシンシグナルによって *WOX13* の発現が誘導されることを見出すことができた。実際に生体内のオーキシン濃度を測定した結果、切断後 3.5 時間以内に一方の傷口でオーキシン濃度が高まっていることが明らかとなった。また、通常はカルスがほとんど形成されない方の傷口にオーキシンを局所的に塗布すれば、カルス形成を誘導で

きることも明らかとなったため、一方の傷口に蓄積するオーキシンが **WOX13** の発現を強く誘導し、それが活発なカルスの形成を引き起こしているという結論を得た。本研究成果をまとめて原著論文として報告した (Tanaka et al., 2023 *Plant Cell Physiology*)。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Tanaka Hayato, Hashimoto Naoki, Kawai Satomi, Yumoto Emi, Shibata Kyomi, Tameshige Toshiaki, Yamamoto Yuma, Sugimoto Keiko, Asahina Masashi, Ikeuchi Momoko	4. 巻 64
2. 論文標題 Auxin-Induced WUSCHEL-RELATED HOMEBOX13 Mediates Asymmetric Activity of Callus Formation upon Cutting	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Plant and Cell Physiology	6. 最初と最後の頁 305 ~ 316
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/pcp/pcac146	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Umeda Masaaki, Ikeuchi Momoko, Ishikawa Masaki, Ito Toshiro, Nishihama Ryuichi, Kyojuka Junko, Torii Keiko U., Satake Akiko, Goshima Gohta, Sakakibara Hitoshi	4. 巻 106
2. 論文標題 Plant stem cell research is uncovering the secrets of longevity and persistent growth	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Plant Journal	6. 最初と最後の頁 326 ~ 335
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/tpj.15184	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Ikeuchi Momoko, Iwase Akira, Ito Tasuku, Tanaka Hayato, Favero David S, Kawamura Ayako, Sakamoto Shingo, Wakazaki Mayumi, Tameshige Toshiaki, Fujii Haruki, Hashimoto Naoki, Suzuki Takamasa, Hotta Kazuhiro, Toyooka Kiminori, Mitsuda Nobutaka, Sugimoto Keiko	4. 巻 188
2. 論文標題 Wound-inducible WUSCHEL-RELATED HOMEBOX 13 is required for callus growth and organ reconnection	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Plant Physiology	6. 最初と最後の頁 425 ~ 441
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/plphys/kiab510	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Iwase Akira, Kondo Yuki, Laohavisit Anuphon, Takebayashi Arika, Ikeuchi Momoko, Matsuoka Keita, Asahina Masashi, Mitsuda Nobutaka, Shirasu Ken, Fukuda Hiroo, Sugimoto Keiko	4. 巻 232
2. 論文標題 WIND transcription factors orchestrate wound induced callus formation, vascular reconnection and defense response in Arabidopsis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 New Phytologist	6. 最初と最後の頁 734 ~ 752
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/nph.17594	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Lambolez Alice, Kawamura Ayako, Takahashi Tatsuya, Rymen Bart, Iwase Akira, Favero David S, Ikeuchi Momoko, Suzuki Takamasa, Cortijo Sandra, Jaeger Katja E, Wigge Philip A, Sugimoto Keiko	4. 巻 -
2. 論文標題 Warm Temperature Promotes Shoot Regeneration in Arabidopsis thaliana.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Plant and Cell Physiology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/pcp/pcac017	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Coleman Duncan, Kawamura Ayako, Ikeuchi Momoko, Favero David S., Lambolez Alice, Rymen Bart, Iwase Akira, Suzuki Takamasa, Sugimoto Keiko	4. 巻 184
2. 論文標題 The SUMO E3 Ligase SIZ1 Negatively Regulates Shoot Regeneration	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Plant Physiology	6. 最初と最後の頁 330 ~ 344
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1104/pp.20.00626	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Ikeuchi Momoko, Rymen Bart, Sugimoto Keiko	4. 巻 57
2. 論文標題 How do plants transduce wound signals to induce tissue repair and organ regeneration?	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Current Opinion in Plant Biology	6. 最初と最後の頁 72 ~ 77
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.pbi.2020.06.007	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 池内桃子, 杉本慶子	4. 巻 5
2. 論文標題 傷口からの再生ー植物の細胞リプログラミング	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 生物の科学 遺伝	6. 最初と最後の頁 568-573
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 池内桃子
2. 発表標題 器官の再接着を可能にするカルス細胞の出会い
3. 学会等名 日本植物学会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Momoko Ikeuchi
2. 発表標題 How do plants re-construct a new life upon injury?
3. 学会等名 日本分子生物学会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小倉菜緒、池内桃子
2. 発表標題 シュート再生系におけるWUS とWOX13 の発現動態の解析
3. 学会等名 日本植物学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 池内桃子
2. 発表標題 器官再生における細胞リプログラミングの制御機構
3. 学会等名 日本植物学会
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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------