

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 5 月 17 日現在

機関番号：14603

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26840096

研究課題名(和文)植物のエンドサイクル制御の分子基盤の解明

研究課題名(英文)A genetic framework for the control of DNA polyploidization in plants

研究代表者

高橋 直紀(Takahashi, Naoki)

奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス研究科・助教

研究者番号：40553623

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：植物の成長は細胞分裂周期からDNA倍加周期(エンドサイクル)へ移行のタイミングにより決定されることから、エンドサイクル制御の分子メカニズムの解明は、環境に応じた植物の成長を理解する上で特に重要である。現在までに、E3リガーゼAPC/Cの活性化因子であるCCS52A1がエンドサイクル制御において重要な役割を果たしていることが知られている。本研究では、環境ストレスに応答してCCS52A1遺伝子が転写誘導されることや、組織特異的なサイトカイニンの蓄積がCCS52A1遺伝子の転写誘導に関与することを見出した。

研究成果の概要(英文)：Plant growth is controlled by the timing of transition from mitotic cell cycle to endoreplication. Therefore, to understand plant growth under fluctuating environmental conditions, it is important to know the molecular mechanism of endoreplication onset in plants. Previous studies reveal that CCS52A1, an activator of an E3 ligase, anaphase-promoting complex/cyclosome (APC/C), is involved in the control of endoreplication onset. Our study revealed that the induction of CCS52A1 gene is regulated by tissue-specific activation of cytokinin biosynthesis in response to environmental stress.

研究分野：植物分子細胞生物

キーワード：細胞周期 エンドサイクル 環境ストレス 植物ホルモン CDK

### 1. 研究開始当初の背景

根は根端に存在する分裂領域(根端分裂組織)での細胞分裂により、細胞が積み上がることで伸長する。これらの細胞はやがて数回の細胞分裂を繰り返した後に分裂を停止し、多くの高等植物の場合、細胞成長を開始する。この過程で通常の細胞周期はエンドサイクル(細胞分裂を行うM期をスキップしDNA複製のみを繰り返すサイクル)へと転換し、DNA倍加とそれに伴う細胞の肥大化を始める。環境に応じた根の伸長は主に細胞分裂の速度とエンドサイクルへの転換のタイミングにより決まることから、この一連の過程を分子レベルで理解することは重要な研究課題である。

### 2. 研究の目的

現在までに、細胞がエンドサイクルへ転換する際には、E3ユビキチンリガーE3 APC/Cの活性化因子であるCCS52A1が重要な役割を果たしていると考えられている。CCS52A1遺伝子は分裂領域と細胞伸長領域の境界付近(移行領域)で発現することで、細胞分裂に関わる細胞周期因子の分解を促進し、細胞分裂からエンドサイクルへの転換を引き起こすことが知られている(図1)。一方で、*ccs52a1*変異体ではエンドサイクルへの移行が著しく遅れることから、CCS52A1遺伝子の発現制御が細胞分裂からエンドサイクルへの転換に重要であると考えられる。本研究ではCCS52A1を中心とした制御メカニズムを明らかにすることで、環境に応じたエンドサイクルの制御メカニズムの総合的理解を目指す。

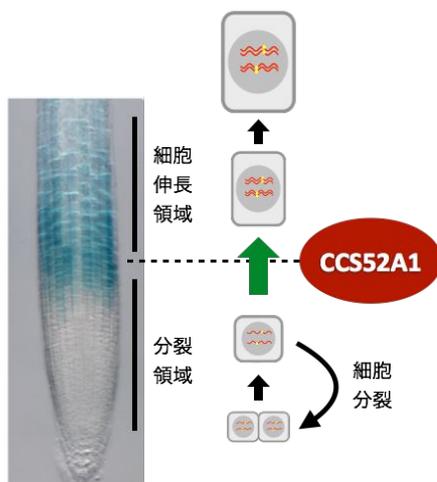


図1 CCS52A1によるエンドサイクルへの転換  
CCS52A1は細胞伸長領域で発現し、エンドサイクルへの転換を促進し、DNA倍加と細胞の肥大化を引き起こす。

### 3. 研究の方法

(1) 植物は外部環境に応じて自身の成長をコントロールしている。以前までの研究で、植物はDNA損傷などの環境ストレスを受けると、細胞分裂からエンドサイクルへの転換を促進することで根の伸長を抑制すること

が知られている。本研究では、CCS52A1遺伝子の転写制御機構を明らかにすることで、DNA損傷ストレスとエンドサイクル制御との関係について調べた。

(2) 細胞分裂からエンドサイクルへの移行には、サイクリン依存性キナーゼ(CDK)活性の低下が必要であることが知られている。本研究では、環境ストレスに応答したCDK活性の低下に関わる新規因子を同定するとともに、その制御メカニズムについて調べた。

### 4. 研究成果

(1) DNA損傷阻害剤であるゼオシンを植物に処理すると、エンドサイクルへの転換が促進されることが知られている。そこで、DNA損傷ストレスとエンドサイクルとの関係を調べたところ、ゼオシン処理によりCCS52A1遺伝子の発現量が著しく増加することを明らかにした。さらに、組織レベルでのCCS52A1遺伝子の発現領域を調べたところ、根の移行領域で特異的に遺伝子発現が誘導されることを明らかにした(図2)。現在までに、CCS52A1遺伝子の発現制御に植物ホルモンのサイトカイニンが関与していることを明らかにしていることから、サイトカイニンとの関係についても調べたところ、ゼオシンを処理するとサイトカイニンの生合成に関わる複数の遺伝子の発現が誘導されることを見出した。さらに、それら遺伝子も根の移行領域で特異的に誘導されることを発見した。これらの結果から、植物はDNA損傷などの環境ストレス下に曝されると、根の移行領域でサイトカイニン合成を活性化し、CCS52A1遺伝子の転写を誘導することで、エンドサイクルへの移行の促進、根の伸長抑制を制御していることが示唆された。

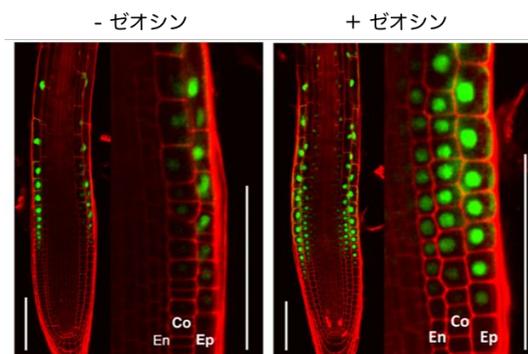


図2 DNA損傷に応答したCCS52A1遺伝子の発現誘導

(2) DNA損傷などの環境ストレスを受けると、CDK活性阻害に働く、複数のCDKインヒビターの遺伝子発現が誘導されることを明らかにした。特にCDKと直接相互作用することによりCDK活性を阻害することが知られているSIAMESE-RELATED(SMR)遺伝子は、DNA損傷後の数時間以内に急激に転写量が増加することを見出した。SMR遺伝子を

過剰発現させると、エンドサイクルへの移行が促進することが知られていることから、DNA 損傷に応答した SMR 遺伝子の発現誘導が、植物のエンドサイクルへ移行を促進している可能性が示唆された。さらに、SMR 遺伝子の転写誘導機構を調べたところ、植物の DNA 損傷 応答 に関わる 転写 因子 SUPPRESSOR OF GAMMA RESPONSE (SOG1) が SMR 遺伝子の発現誘導に直接関わっていることを明らかにした。さらに、SOG1 の機能欠損変異体では DNA 損傷に 応答したエンドサイクルへの移行が抑制されたことから、SOG1 が SMR 遺伝子などの転写を誘導することで CDK 活性を阻害し、細胞分裂からエンドサイクへの移行を促進していることが示唆された。

#### 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6件)

Weimer, A.K., Biedermann, S., Harashima, H., Roodbarkelari, F., Takahashi, N., Foreman, J., Guan, Y., Pochon, G., Heese, M., Van Damme, D., Sugimoto, K., Koncz, C., Doerner, P., Umeda, M., and Schnittger, A. The plant-specific CDKB1-CYCB1 complex mediates homologous recombination repair in *Arabidopsis*. *EMBO Journal* 35: 2068-2086, 2016. 査読有  
DOI: 10.15252/embj.201593083

Davis, M.M., Ogita, N., Inagaki, S., Takahashi, N., and Umeda, M. DNA damage inhibits lateral root formation by up-regulating cytokinin biosynthesis genes in *Arabidopsis thaliana*. *Genes to Cells* 21: 1195-1208, 2016. 査読有  
DOI: 10.1111/gtc.12436

高橋直紀、梅田正明、根端メリステムのサイズ制御機構、*BSJ-review*、査読有、Vol. 7、2016、pp. 201-209、<http://bsj.or.jp/jpn/general/bsj-review.php>

高橋直紀、梅田正明、植物の DNA 損傷 応答、*化学と生物*、査読有、Vol. 54、2016、pp. 123-129、[https://katosei.jsbba.or.jp/back\\_issue.php?bn\\_vol=54&bn\\_no=2](https://katosei.jsbba.or.jp/back_issue.php?bn_vol=54&bn_no=2)

Takahashi, N., and Umeda, M. Cytokinins promote onset of endoreplication by controlling cell cycle machinery. *Plant Signaling Behaviour* 9: e29396, 2014. 査読有  
DOI: 10.4161/psb.29396

Yi, D., Kamei, C.L.A., Cools, T.,

Vanderauwera, S., Takahashi, N., Okushima, Y., Eekhout, T., Yoshiyama, K.O., Larkin, J., Van den Daele, H., Conklin, P., Britt, A., Umeda, M., and De Veylder, L. The *Arabidopsis thaliana* SIAMESE-RELATED cyclin-dependent kinase inhibitors SMR5 and SMR7 control the DNA damage checkpoint in response to reactive oxygen species. *Plant Cell* 26: 296-309, 2014. 査読有  
DOI: 10.1105/tpc.113.118943

##### [学会発表](計6件)

高橋直紀、梅田正明、Brassinosteroids are involved in stem cell replenishment in *Arabidopsis* roots under DNA damage、Plant Organ Growth Symposium、2017年3月15日～17日、エルチェ(スペイン)

高橋直紀、梅田正明、DNA damage response in *Arabidopsis* roots、Plant Genome Stability and Change 2016、2016年7月7日～10日、湘南国際村センター(神奈川県横須賀市)

高橋直紀、藤本啓介、梅田正明、Maintenance of genome integrity in root stem cells under DNA stress、第57回日本植物生理学会年会、2016年3月18日～20日、岩手大(岩手県盛岡市)

高橋直紀、丸池加奈子、高塚大知、梅田正明、根端分裂組織のサイズ制御機構、日本植物学会第79回大会、2015年9月6日～8日、朱鷺メッセ(新潟県新潟市)

梅田正明、藤本啓介、高橋直紀、Stem cell replenishment maintains genome integrity、第56回日本植物生理学会年会、2015年3月16日～18日、東京農業大(東京都世田谷区)

高橋直紀、Chen P、梅田正明、DNA damage response in *Arabidopsis* roots、Plant Genome Stability and Change 2014、2014年7月17日～20日、カリフォルニア(アメリカ)

##### [図書](計1件)

高橋直紀、梅田正明、Springer, New York、Cell Cycle; Cell Biology. edited by Assmann S. and Liu B.、2014、1-19

##### [その他]

植物成長制御研究室ホームページ  
<http://bsw3.naist.jp/umeda/>

#### 6. 研究組織

##### (1)研究代表者

高橋直紀 (TAKAHASHI, Naoki)

奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイ  
エンス研究科・助教  
研究者番号：40553623