

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年6月6日現在

機関番号：12601

研究種目：新学術領域研究(研究領域提案型)

研究期間：2013～2017

課題番号：25113001

研究課題名(和文)植物発生ロジックの多元的開拓

研究課題名(英文)Multidimensional Exploration of Logics of Plant Development

研究代表者

塚谷 裕一(Tsukaya, Hirokazu)

東京大学・大学院理学系研究科(理学部)・教授

研究者番号：90260512

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 125,500,000円

研究成果の概要(和文)：本総括班では、計画班及び公募班の以下の研究活動を全面的にサポートすることで領域全体の成果達成に貢献した。

本課題では、植物の発生ロジックの解明を目指した。優秀な若手を中心とした公募班研究と一丸となり未開拓の分野を切り開いた成果として、植物発生・成長の中心的問題である植物の幹細胞性を与える仕組み、細胞の分化、増殖と配置の仕組み、成長相転換の仕組みなどを牽引する鍵遺伝子を数多く見出し、その機能を解くことができた。また遺伝子冗長性が極めて低いゼニゴケを新たなモデルとして確立した。さらに代謝に注目し、発生・成長を調節する新奇シグナル分子を探索し、新たに「代謝発生生物学」の分野を打ち立てることに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本領域は植物の本質的な発生ロジックについて、対象とする発生現象が異なる9つの計画班と4つの支援体制の強い協力体制によって解き明かすことを目指した点で、国内外に類のない植物発生に関する研究グループを構築した。この領域による多元的かつ開拓的な研究によって、植物発生戦略に留まらず、広く生物発生戦略の体系的理解に寄与した。また、本領域で得られる成果が、将来、生産環境農学分野の遺伝育種科学、作物生産科学、園芸科学、環境農学といった応用研究分野にも広くインパクトを与え、ひいては地球環境悪化や食料不足問題といった地球規模の問題解決に寄与することができれば、本領域研究の成功は非常に意義深いものとなるだろう。

研究成果の概要(英文)：We tried to reveal 'logics of plant development' in this project. As a result of exploration of new research fields with young talented scientists, we could many key genes involved in the mechanisms for establishment of stem cell natures in plants, for cell differentiation, for control of proliferation and arrangement of cells, and for phase transition. We also revealed functions of these key genes. In addition, we could establish a new excellent model system, *Marchantia polymorpha*, which has very low redundancy in the genome. Moreover, we could propose a new research field, metabolo-developmental biology which searches new signal molecules for regulation of development and growth of plants.

研究分野：発生生物学 / 進化生物学 / 生物多様性 / 植物分子生物・生理学

キーワード：植物発生 ロジック 形態形成 メタボロミクス e-learning

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

本総括班では、計画班および公募班の以下の研究活動を全面的にサポートすることで、領域全体の成果達成に貢献した。

### 1. 研究開始当初の背景

植物の発生生物学は、1990年ごろからシロイヌナズナの分子遺伝学を用いて国内外で急速に発展し、2000年以降、イネの分子遺伝学の発展やモデル植物・作物のゲノムプロジェクトの相次ぐ完了により大きく進展した。特に日本においても、本計画の班員により植物ホルモンのジベレリンやサイトカイニンの受容体の発見、花成ホルモンであるフロリゲン (FT/Hd3a) タンパク質の同定とその作用機構の解明など、生物学の歴史に残る多くの発見がなされてきた。その結果、この十数年の間に、日本の植物発生生物学は、欧米の研究とともに世界をリードする地位を確保したと言える。これは平成14-18年度の特定期域研究「植物の軸と情報」に引き続き、平成19-24年度にわたってこの分野を推進してきた特定期域研究「植物メリステムと器官の発生を支える情報統御系 (植物メリステム)」の成果の一つである。一方、昨今、地球規模での環境悪化に伴い、国内外で植物の成長やバイオマスの向上につながる応用を目指した大型プロジェクトが進んでいる。しかし、このような応用研究の成功は植物の発生・成長の本質の理解なくしてあり得ない。

では、『植物の発生・成長の本質』とは何か？動物の発生の場合、幹細胞や分化細胞のアイデンティティーはエピジェネティック制御で強化された転写ネットワークにより固定されるのに対して、植物の幹細胞や分化細胞のアイデンティティーは、細胞環境に応じた柔軟な転写ネットワークにより決まる。とくに植物は光合成生物であるため、代謝産物の蓄積状況に応じて発生を調節する。また近年、植物では転写因子やその調節因子、低分子RNAも細胞・器官間を移動してシグナルとして働くことが明らかにされ、従来の予想以上に植物の発生は、動物の発生と大きく異なり柔軟かつ堅実に制御されていることがわかってきた。そこで本研究領域は、このような植物の本質的な発生ロジックを理解すべく、以下のような目的を掲げ新たな学術領域を提案した。

### 2. 研究の目的

本研究領域では、植物の発生成長制御における本質的なロジック、すなわち発生生物学の教科書を書き替える・書き加える新発見の追求である。主な対象は、植物発生・成長の中心的問題である植物の幹細胞性を与える仕組み、器官発生における細胞の分化、増殖と配置の仕組み、成長相転換などである。これらを牽引する鍵遺伝子を徹底して見だし、その機能を解き明かす。また遺伝子冗長性が極めて低いゼニゴケを用いて、徹底した網羅的かつ入念な研究により、形態形成の本質的制御システムを見いだす。さらに代謝に注目して、発生・成長を調節する新奇シグナル分子を探索し、新たに「代謝発生生物学」の分野を打ち立てる。

### 3. 研究の方法

9つの研究グループからなる計画研究班に2年目から十数グループの公募研究班を加え、緊密な協力にもとづく研究空間を組むことで、植物の発生ロジックの解明を目指す。その基盤としての、計画研究班全体で構築する多元的な研究の場は、以下の5つの軸からなる。

- 1: 植物の生命現象の階層性を意識した、「器官別の解析」という最も基盤となる次元。
- 2: 情報伝達系因子や転写関連因子、ペプチド性細胞間シグナル分子、低分子RNAの解明という分子機能を意識した第2次元。
- 3: シロイヌナズナ (真正双子葉植物) からイネ (単子葉植物) やゼニゴケ (維管束のない陸上植物) へといった、別システムへの投射によって本質経路を抽出する第3次元。
- 4: 発生現象を代謝のメタボローム解析から捉えるという第4次元。
- 5: 複雑なネットワークから本質的な経路を抽出する数理解析という第5次元。

これらが立体的に組み合わせさせた研究の網の目を使って、計画班自ら、世界をリードし未開拓の分野を切り開く。それと共に、この網の目状の研究の場に、優秀な若手を中心とした公募班研究をそこへ組み合わせ、一丸となって、植物の発生の本質的なロジックを解き明かす。そこで総括班では、各班員の研究が円滑に進むように、メタボローム解析基盤や、シロイヌナズナ全転写因子ライブラリー構築などの研究支援体制・支援ツールを整えとともに、若手研究者の積極的な育成を進めつつ、班会議や国際シンポジウム・ワークショップの開催など領域の活動を推進させるための運営を行なう。

### 4. 研究成果

(1)「教科書に載る・書き換える新知見」について、数多くの成果を得た。また本領域の具体的な目標は、「植物発生・成長の中心的問題である植物の幹細胞性を与える仕組み、器官発生における細胞の分化、増殖と配置の仕組み、成長相転換の仕組みなどを牽引する鍵遺伝子を徹底して見だし、その機能を解き明かす。また遺伝子冗長性が極めて低いゼニゴケを用いて、徹底した網羅的かつ入念な研究により、形態形成の本質的制御システムを見いだす。さらに代謝に注目して、発生・成長を調節する新奇シグナル分子を探索し、新たに「代謝発生生物学」の分野を打ち立てる」となっていた。これに即して、以下、具体的に達成を述べる。

(2) 「植物発生・成長の中心的問題である植物の幹細胞性を与える仕組み」に関しては、伊藤の維管束幹細胞形成の鍵となる転写因子と、植物ホルモンとの関係性に関する解析 (Curr. Biol. 2014, 2015) や、深城による側根創始細胞の選択機構や、側根原基の静止中心の確立の解明 (Development 2016)、平野によるイネの腋芽メリステムの制御メカニズム解明 (Plant Cell 2015) あるいは高橋による、根端幹細胞の再生にはオーキシンおよびブラシノステロイド活性の時空間的变化が必須であることの発見など、多くの重要知見を導き出すことができた。

続いて「器官発生における細胞の分化、増殖と配置の仕組み」に関しては、塚谷と平井が、葉原基における細胞分裂の時空間的分布パターンの制御メカニズムとして、転写共因子である AN3 が、古典的なモルフォゲンで想定された通りの細胞間拡散を見いだした (Biophysics J.)。また藤田と塚谷は、袋状の食虫植物の葉が、従来の仮説と大きく異なり、葉原基中の細胞分裂角度の局所的变化によって作られることを発見した (Nature Commun. 2015)。またこうした器官原基内における細胞分裂の角度と頻度を迅速にモニターする実験系の構築を進めた (New Phytol. 2017)。また柿本は気孔系譜の幹細胞が環境ストレスでどう分裂活性を変えるかを解明 (PCP 2014) するなど、多くの器官で独自性の高い知見を多数積み上げた。

(3) 上記を支える細胞の増殖の基本的仕組みに関しては、伊藤と高橋が共同研究により、DNA 損傷による細胞周期停止に、G2/M 期進行制御に関わる R1R2R3 MYB 転写因子が必須であることを発見 (Nature Commun. 2017) した。また榊原は、ヒメツリガネゴケのさく柄分裂組織で発現する PpKNOX1 遺伝子が、PpBELL 遺伝子とともに細胞周期関連遺伝子を制御することを見いだした。

こうした細胞増殖の上の次元で起きる「器官の配置と増殖」に関しては、藤本が数理解析から、花器官の 5 数性と 4 数性を決めるロジックを数理モデルから予測 (PLOS Comp. Biol. 2015)。花器官数の種内のばらつきに関する法則性 (Annals of Bot. 2016) とその要因に関する数理的予測 (Frontiers Plant Sci. 2014) を進めるといった、ユニークな展開を見せた。一方藤田は、葉序の規則的パターンに関し、植物ホルモンオーキシンは、未知の拡散性分子 X を介してオーキシン排出キャリア PIN1 を間接的に制御することを数理解析により予測した (PLOS Comp. Biol. 2018)。

(4) 「成長相転換の仕組み」に関しては、荒木がシロイヌナズナの花成について、主要無機栄養カリウムによる制御機構 (PCP 2018)、光情報伝達経路の新規因子 PHL の発見 (PNAS 2013)、フロリゲンの輸送とその制御に関する新知見 (Plant J. 2013, PCP 2018a)、フロリゲン複合体形成に関わるキナーゼ CPK33 の同定 (Sci. Rep. 2015) などを進めた。これに関連して一方田岡は、花成への相転換を妨げるアンチフロリゲン RCN が、花成ホルモンのフロリゲン Hd3a と競合する仕組みを解明した (PCP 2018)。さらに阿部は遠藤とともに、シロイヌナズナ Myb 型転写制御因子 FE が、葉の節部伴細胞におけるフロリゲンの産生と輸送制御の両方に関わる鍵因子であることを明らかにした (PCP 2017, PCP 2018)。

(5) 平野はイネの生殖相において、YABBY 転写因子である 3 つの TOB 遺伝子が、花の発生と、その前段階の相である花序の発生とを、細胞非自律的に制御していることを明らかにした (New Phytol. 2017)。また河内は、ゼニゴケの特質を活かして、その成長相転換に関与する制御経路とその統合因子となる転写因子とを解明した (Nature Commun. 2013, Curr. Biol. 2018)。

このように、それぞれの目標に関しては、それぞれの生物学的過程を「牽引する鍵遺伝子を徹底して見だし、その機能を解き明かす」という形で目標としてきた通り、それぞれ重要な鍵遺伝子を多数見だし、機能解明に進めることができた。

(6) 以上のように、本領域で設定した 5 つの多元的開拓の軸のうち、まず最初の 1, 2 にあたる

1 : 植物の生命現象の階層性を意識した、「器官別の解析」という最も基盤となる次元。

2 : 情報伝達系因子や転写関連因子、ペプチド性細胞間シグナル分子、低分子 RNA の解明という分子機能を意識した第 2 次元。

について、全く問題なく目標を達成できた。この背景としては、支援班で尽力した、シロイヌナズナ転写因子全ライブラリー構築が、大きな威力を発揮した。また班員の篠原が作成した、シロイヌナズナ受容体キナーゼ群の発現ライブラリーも、ペプチド性細胞間シグナル因子の解明にきわめて強力なツールとなった。また河内により提供されたゼニゴケのゲノム情報 (Cell 2017)、濱田と河内が同定したゼニゴケの miRNA のカタログ化 (PCP 2016) も大きなサポートになった。なお中島は、miR165/6 による HD-ZIP111 の発現抑制を介した制御系が、根端のみならず葉原基や胚珠形成においても広く機能することを示した (Curr. Opin. Plant Biol. 2014, Plant J. 2015, Development 2015, Cell Rep. 2015, PCP 2018)。

(7) 一方、5 つの多元的開拓の軸のうち残りの 3 つ、

3 : シロイヌナズナ (真正双子葉植物) からイネ (単子葉植物) やゼニゴケ (維管束のない陸上植物) へといった、別システムへの投射によって本質経路を抽出する第 3 次元。

4：発生現象を代謝のメタボローム解析から捉えるという第4次元。  
5：複雑なネットワークから本質的な経路を抽出する数理解析という第5次元。  
に関しても、順調な成果達成を進めることができた。

(8) まず「シロイヌナズナ（真正双子葉植物）からイネ（単子葉植物）への投射による本質経路の抽出」は、主に平野と伊藤が担当し、シロイヌナズナでシュート腸の幹細胞ニッチ形成に重要な因子としてどの教科書にも書かれている WUSCHEL (WUS)が、イネでは異なる機能をもつことを平野が解明 (Plant Cell 2015)。またシロイヌナズナの葉の発生において多面的な機能をもつことで、世界的に注目が集まっている AN3については、伊藤が塚谷とともに機能解析を進め、イネにおいても基本的に同じ機能を保有するものの、その機能を発揮するにあたって見られる細胞層間の移動方向が、シロイヌナズナとイネとでは全く逆方向であることを見いだした (Development 2018)。ほかにも、シロイヌナズナだけで解析しては見落とされるであろう重要な特性の違いが、いくつも発見されている。

(9) 「ゼニゴケへの投射による本質経路の抽出」は、河内を中心にきわめて多彩な研究が展開された。河内研が主導したものとしては、光環境応答の解明 (Plant Physiol. 2014, PNAS 2016, Plant Cell 2016)、先述済みの成長相転換に關する制御 (Nature Commun. 2013, Curr. Biol. 2018)の他、植物ホルモンの生合成と信号伝達の進化的変遷 (PLOS Genet. 2015, Plant Cell 2015, Nature Chem. Biol. 2018)、オーキシン信号伝達のパターン形成における役割 (PCP 2017)などがあげられる。塚谷も河内とともにシロイヌナズナにおいて葉の横幅と厚さを制御する重要因子・ANの、ゼニゴケでの機能解明を進め、細胞レベルでは同様の機能を有すること、ただしシロイヌナズナでは複相の胞子体世代で機能しているのに対し、ゼニゴケでは単相の配偶体世代で機能していることなどの違いを見いだした (Development, in revision)。また中島は陸上植物で広く保存されている RKD 遺伝子が、生殖細胞形成の鍵因子であることを明らかにし (Curr. Biol. 2016, Curr. Opin. Plant Biol. 2018)、荒木はゼニゴケの雄性生殖器官と配偶子形成の解析を進めた (PCP 2016)。ゼニゴケを用いた研究の利便性は急速に進んだこと、また班員への積極的な技術提供を進めたことから、別項で述べたとおり、ゼニゴケを研究材料に採用する研究者は、この研究班を核として爆発的に増加し、日本中で標準研究スタイルの一つとなるに至った。新しいモデル生物・ゼニゴケの確立とそれを用いた研究者コミュニティの急速な発展は、本領域の大きな成果の一つである。

(10) さらに「発生現象を代謝のメタボローム解析から捉える」ことに関しては、全く新しい試みだっただけに初動はゆっくりであったが、着実に手法が浸透し、多くの班員が研究手法に取り入れた。その結果、平井と塚谷は、シロイヌナズナ胚の極性形成にこれまで発生生物学上ノーマークであったチトクロム P450 酵素の、CYP77A4 が必要であることを解明した (投稿中)。また平井と河内は、シロイヌナズナ及びゼニゴケのセリン生合成酵素 PGDH がある種のアミノ酸で活性化されることを解明 (Sci. Rep. 2017)。また望月と平井と塚谷は、望月が見いだした代謝経路に関する数理解論 (Phys. Rev. Lett. 2016, J. Theor. Biol. 2016)を応用し、葉の形態形成とある代謝ネットワークを繋ぐ代謝不全を、メタボロミクス解析と数理解析を組み合わせることで同定することに成功した (投稿中)。また前島は、ピロリン酸の濃度調節に関わる液胞膜 H<sup>+</sup>-pyrophosphatase (H<sup>+</sup>-PPase) と可溶性 PPase の変異株解析から、ピロリン酸の濃度維持機構と細胞分裂、細胞壁形成、組織形成とを関連づける機構を解明した (Plant Cell 2014, Plant Cell 2018)。

(11) 「複雑なネットワークから本質的な経路を抽出する数理解析」については、上記の通り望月が見いだした代謝経路に関する数理解論 (Phys. Rev. Lett. 2016, J. Theor. Biol. 2016)を応用した解析、藤本や藤田が推進した数理的解析、小田による反応拡散と導管細胞壁パターン形成、鳥居と藤田による気孔パターン形成と反応拡散パターンの関連性 (PLOS Genet. 2015)等が進んだ。遠藤と荒木による発見の一つ、植物の概日時計システムが組織ごとに異なる特性を持つことも、一種の数理的解明の一つと言える (Nature 2014, Nature Plants 2015)。

以上のように、本領域では5つの軸を設定した多元的開拓により、植物の発生のロジックに関して、教科書に載る・記述を書き換える新知見を目標通り、多数世に送り出すことができた。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 17 件)

(1) Monte I, Ishida S, Zamarreno AM, Hamberg M, Franco-Zorrilla JM, Garcia-Casado G, Gouhier-Darimont C, Reymond P, Takahashi K, Garcia-Mina JM, Nishihama R, Kohchi T, Solano R Ligand-receptor co-evolution shaped the jasmonate pathway in land plants. *Nat Chem Biol*, 査読有, 2018, 14, 480-488.

<https://www.nature.com/articles/s41589-018-0033-4/>

(2) Bowman JL, Kohchi T, Yamato KT, Jenkins J, Shu S, Ishizaki K, Yamaoka S, Nishihama R, Nakamura Y, Berger F, et al. (2017) Insights into land plant evolution garnered from the *Marchantia polymorpha* genome. *Cell* 査読有, 2017, 171: 287-304.e215.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867417311248>

(3) Fukushima K, Fujita H, Yamaguchi T, Kawaguchi M, Tsukaya H, Hasebe M, Oriented cell division shapes carnivorous pitcher leaves of *Sarracenia purpurea*. *Nat. Commun.*, 査読有, 2015, 6: 6450

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4382701/>

〔学会発表〕(計 21 件)

(国際シンポジウム、招待講演に限り記載)

(1) 河内孝之、"Light-Regulated Induction of Sexual Reproduction in *Marchantia polymorpha*"ほか、*Marchantia Workshop 2017 モデル生物ゼニゴケを用いた研究の国際的な研究集会*、140 名、岡崎コンファレンスセンター(愛知県・岡崎市)、2017.12.16-18、<http://www.nibb.ac.jp/conf65/>

(2) 塚谷裕一ほか、TAIWAN-Japan 2017 Plant Biology Conference、Session 5:Evolution, Taxonomy, Non-model plant, Education、参加者総数 680 名、Academia Sinica(台湾・台北市) 2017.11.4、<http://www.conf.tw/site/mypage.aspx?pid=157&lang=en&sid=1168>

(3) 塚谷裕一ほか、日本発生生物学会第 50 回大会、Symposium 03 : Evo Devo ほかスピーカーとして 21 名、タワーホール船堀(東京都・江戸川区) 2017.5.10、<https://www2.jsdb.jp/kaisai/jsdb2017/index1.php>

(4) 塚谷裕一ほか、日本発生生物学会第 48 回大会、Symposium 5 : Topics in plant and animal development、つくば国際会議場(茨城県・つくば市) 2015.6.5、<http://www2.jsdb.jp/kaisai/jsdb2015/index-e.php>

(5) 塚谷裕一、大橋恭子ほか、日本植物学会第 78 回大会 シンポジウム 発生ロジックをもたらすシグナル分子群、明治大学生田キャンパス(神奈川県・川崎市) 2014.9.13、<http://bsj.or.jp/bsj78/symposium.html>

(6) Hirokazu Tsukaya, "Control of mechanisms of meristematic activities in leaf primordia"(招待講演) 第 7 回 APOCB シンポジウム, Biopolis, Singapore, 2014.02.27

(7) Hirokazu Tsukaya, Temasek Life Sciences Laboratory (招待講演) "A key player of leaf programs in Arabidopsis:ANGUSTIFOLIA" Temasek Life Sciences Laboratory, National University of Singapore 2014.02.26

(8) 塚谷裕一、伊藤(大橋)恭子、柿本辰男、深城英弘、河内孝之、平井優美、第 55 回日本植物生理学会年会 シンポジウム 11 植物発生ロジックの多元的研究、富山大学五福キャンパス(富山県・富山市) 2014.3.19、<http://jspp.org/annualmeeting/55/index.html>

〔図書〕(0 件)

〔産業財産権〕

なし

〔その他〕

ホームページ等

植物発生ロジックの多元的開拓

<http://logics.plantdev.biol.s.u-tokyo.ac.jp/>

## 6 . 研究組織

### (1) 研究分担者

平井 優美 (HIRAI MASAMI)  
理化学研究所・環境資源科学研究センター・チームリーダー  
研究者番号：90415274

松井 南 (MATSUI MINAMI)  
理化学研究所・環境資源科学研究センター・チームリーダー  
研究者番号：80190396

望月 敦史 (MOCHIZUKI ATSUSHI)  
理化学研究所・主任研究員研究室等・主任研究員  
研究者番号：10304726

河内 孝之 (KOHCHI TAKAYUKI)  
京都大学・大学院生命科学研究科・教授  
研究者番号：40202056

光田 展隆 (MITSUDA NOBUTAKA)  
産業技術総合研究所・産業技術総合研究所・研究グループ長  
研究者番号：80450667

伊藤(大橋) 恭子 (ITO KYOKO)  
東京大学・大学院理学系研究科・准教授  
研究者番号：90451830

大島 良美 (OSHIMA YOSHIMI)  
産業技術総合研究所・生物プロセス研究部門・研究員  
研究者番号：00722951

### (2) 研究協力者

深城 英弘 (FUKAKI HIDEHIRO)  
神戸大学・大学院理学研究科・教授  
研究者番号：80324979

荒木 崇 (ARAKI TAKASHI)  
京都大学・大学院生命科学研究科・教授  
研究者番号：00273433

柿本 辰男 (KAKIMOTO TATSUO)  
大阪大学・大学院理学研究科・教授  
研究者番号：70214260

中島 敬二 (NAKAJIMA KEIJI)  
奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・教授  
研究者番号：80273853

平野 博之 (HIRANO HIROYUKI)  
東京大学・大学院理学系研究科・教授  
研究者番号：00192716

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。