

研究種目：特定領域研究

研究期間：2007～2012

課題番号：19060003

研究課題名（和文）茎頂メリステムにおける細胞分裂と葉の発生を支配する統御系

研究課題名（英文）Regulatory system that controls cell proliferation and leaf development in the shoot apical meristem of *Arabidopsis thaliana*

研究代表者

町田 泰則 (MACHIDA YASUNORI)

名古屋大学・大学院理学研究科・教授

研究者番号：80175596

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・植物生理・分子

キーワード：葉の発生分化・miRNA・遺伝子発現制御・葉の左右相称性・葉の表裏・DNA のメチル化・細胞分裂周期

1. 研究計画の概要

本研究計画の目的は、茎頂メリステム（幹細胞群）において葉原基が発生し、葉の三次元構造（基部—先端部軸、向軸—背軸、中央—側方軸）が生み出される分子機構を解明することである。これまでに、3つの軸形成には、シロイヌナズナの *ASYMMETRIC LEAVES1* (*ASI*) と *ASYMMETRIC LEAVES2* (*AS2*) が重要な役割を担っていることを明らかにしてきた。本研究では、*ASI* と *AS2* を基軸として、葉の3つの軸形成の制御機構、細胞分化のエピジェネティックな抑制機構について明らかにする。さらに、細胞分化と分裂のタイミングについて関連性を明らかにする。

2. 研究の進捗状況

この3年間に以下の成果をあげた。

- (1) *ASI*、*AS2* は複数の遺伝子 (*class 1 KNOX*, *ETT*, *KAN2*, *YAB5*) の発現抑制と、低分子 RNA の蓄積量の制御に関わることを明らかにした。
- (2) *class 1 KNOX* 経路は基部—先端部軸形成に関わることを証明した。*ETT* 経路は中央—側方軸と向軸—背軸、*KAN* と *YAB* 経路は向軸—背軸形成を制御していることを示した。
- (3) *ETT* 遺伝子の発現は、*AS2* により、直接的結合と、miRNA を介した間接的経路の両方で（二重に）制御されていることを示した。
- (4) 二重の制御のどちらかが、最終的に *ETT* 遺伝子 DNA の修飾を誘導することを示した。
- (5) *AS2* は核タンパク質であり、核小体に隣接している塊状の構造体として存在していること

を示した。

(6) *ASI* と *AS2* が関わる葉の分化過程では、クロマチン関連因子、リボソームの機能関連因子、miR390 や ta-siRNA などの低分子 RNA の生合成関連因子等の多数の因子が正常に働くことが不可欠であることを、遺伝学的実験により明らかにしてきた。

(7) (6) で多数の因子が関わっていることがわかってきたので、これをさらに証明するために、*as2* 変異体に低分子化合物のライブラリーを添加して、葉の向背軸性に異常をもたらす化合物を同定してきた。その結果、多数の化合物が見いだされたが、それらはいくつかにグループ化された。それを基礎に、化合物の標的となるタンパク質、および遺伝子が同定されてきた。

3. 現在までの達成度

上記したように、*AS2* による *ETT* 遺伝子の二重の発現抑制制御の発見、DNA の修飾を促進する発見は予測していなかった結果である。また、ケミカルバイオロジーによる研究は、当初はまったく想定されていなかったが、そこから、新しい成果が次々と得られつつある。このような成果を考えると、研究は当初の計画以上に進展していると評価される。

4. 今後の研究の推進方策

(1) *AS2* による *ETT* 遺伝子の DNA の修飾を誘導する分子機構を解明する。また、今回見いだされた DNA 修飾のパターンは既知のものとは異なるので、遺伝子発現における新たな意

味づけを解明する必要がある。

(2) これまでの研究で AS2 とともに葉の向背軸性の決定に関わっている因子が多数見いだされたが、それらの機能解明を通して、葉の向背軸性決定の分子機構を明らかにする。

(3) ケミカルバイオロジーで同定された化合物の標的蛋白質を同定し、(2) と同様に研究する。

(4) 細胞の向軸分化と細胞分裂の接点に位置している因子を同定する。これは、発生生物学にとって鍵となる因子であると期待される。

以上のような研究により、葉の細胞分化の総合的理解が可能になると考えられる。

5. 代表的な研究成果

(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 21 件)

1. Matsumura, Y., Iwakawa, H., Machida, Y. and Machida, C.: Characterization of genes in the *ASYMMETRIC LEAVES2/LATERAL ORGAN BOUNDARIES (AS2/LOB)* family in *Arabidopsis thaliana* and functional and molecular comparisons between AS2 and other family members. *Plant J.* 58, 525-537, (2009)
2. Krupnova, T., Sasabe, M., Ghebregiorghis, L., Gruber, C. W., Hamada, T., Dehmel, V., Strompen, G., Stierhof, Y.-D. Lukowitz, W., Kemmerling, B., Machida, Y., Hashimoto, T., Mayer, U., Jürgens, G.: Microtubule-associated kinase-like protein RUNKEL needed for cell plate expansion in *Arabidopsis* cytokinesis. *Curr. Biol.* 19, 518-523 (2009)
3. Yang, J.-Y., Iwasaki, M., Machida, C., Machida, Y., Zhou, X., and Chua, N.-H.: bC1, the pathogenicity factor of TYLCCNV, interacts with AS1 to alter leaf development and suppress selective jasmonic acid responses. *Genes Dev.* 22, 2564-2577 (2008)
4. Iwakawa, H., Iwasaki, M., Kojima, S., Ueno, Y., Soma, T., Tanaka, H., Semiarti, E., Machida, Y. and Machida, C.: Expression of the *ASYMMETRIC LEAVES2* gene in the adaxial domain of *Arabidopsis* leaves represses cell proliferation in this domain and is critical for the development of properly expanded leaves. *Plant J.* 51, 173-184 (2007)
5. Tanaka, H., Watanabe, M., Sasabe, M., Hiroe, T., Tanaka, T., Tsukaya, T., Ikezaki, M., Machida, C., and Machida, Y.: Novel receptor-like kinase ALE2 controls shoot development by specifying epidermis in *Arabidopsis*. *Development* 134, 1643-1652 (2007)
6. Ueno, Y., Ishikawa, T., Watanabe, K., Terakura, S., Iwakawa, H., Okada, K., Machida, C. and

Machida, Y.: Histone deacetylases and ASYMMETRIC LEAVES2 are involved in the establishment of polarity in leaves of *Arabidopsis*. *Plant Cell* 19(2), 445-457 (2007)

[学会発表] (計 83 件)

1. Machida, Y.他7名: ASYMMETRIC LEAVES2 (AS2) and AS1 of *Arabidopsis* are Involved in Epigenetic Control of Leaf Development, a symposium on "Epigenetics and RNA Biology in Plants" (joint symposium between Korean Society of Botany and Korean Society of Plant Biotechnology), Kwang-ju, Korea, April 30-May 1, 2009. (Plenary lecture)
2. 町田泰則、他7名: シロイヌナズナ asymmetric leaves2変異体の向背軸性異常はrRNA前駆体のプロセッシングに関わる遺伝子の変異により亢進される、第51回日本植物生理学会、熊本大学黒髪北キャンパス、熊本市、2010年3月18日-21日
3. Lilan Luo、他7名: The sequences in the AS2/LOB domain are required for the localization to the AS2 body and the functions of ASYMMETRIC LEAVES2 (AS2) protein、第32回日本分子生物学会年会、パシフィコ横浜、横浜市、2009年12月9日-12日
4. 石橋奈々子、他4名: シロイヌナズナの ENHANCER OF ASYMMETRIC LEAVES1 AND ASYMMETRIC LEAVES2 (EAL) は AS1 や AS2 とともに葉の向背軸性の確立に関与する、第32回日本分子生物学会年会、パシフィコ横浜、横浜市、2009年12月9日-12日

[図書] (計 1 件)

駒嶺穆、斉藤和季、田畑哲之、藤村達人、町田泰則、三位正洋 (2009): 「植物ゲノム科学辞典」 (編集及び部分執筆) 朝倉書店

[産業財産権]

○出願状況 (計 3 件)

名称: ラン科植物の形質転換方法
発明者: 町田泰則、町田千代子、Endang Semiarti
権利者: 国立大学法人名古屋大学
番号: PCT/JP2008/056227
出願年月日: 2008年3月28日
国内外の別: 国際出願

名称: 形質転換体の作出方法及びその利用
発明者: 町田泰則、上野宜久
権利者: 国立大学法人名古屋大学
番号: 特願 2007-006588
出願年月日: 2007年1月16日
国内外の別: 国内

[その他]

http://www.bio.nagoya-u.ac.jp/~yas/tokutei_plant_meristems/