

平成 22 年 4 月 16 日現在

研究種目：若手研究 (S)
研究期間：平成 19 年度 ~ 平成 23 年度
課題番号：19677001
研究課題名 (和文) CLE ペプチドをモデルとした植物モルフォゲンの進化と作用機構に関する研究
研究課題名 (英文) Analysis for evolution of plant morphogen, CLE as a model peptide.

研究代表者 澤 進一郎
(SAWA SHINICHIRO)
東京大学・大学院理学系研究科・准教授
研究者番号：00315748

研究代表者の専門分野：植物分子遺伝学
科研費の分科・細目：基礎生物学 植物生理・分子
キーワード：植物分子 形態形成

1. 研究計画の概要

- (1) CLV3 ペプチドの移動様式の解明
- (2) CLV3 下流因子の探索
- (3) ペプチド-受容体結合様式の解明
- (4) ペプチダーゼの単離
- (5) CLV3 を利用した葉序決定機構の解析
- (6) CLE ペプチドの機能的多様性に関する解析
- (7) CLE ペプチドの各種植物における機能分化解析

2. 研究の進捗状況

- (1) ペプチドに様々な蛍光タグを結合し移動様式の観察を行ったが、現在、適切な蛍光タグが見つかっていない。しかし、4 番目のアミノ酸に蛍光物質を結合した合成ペプチドは体内で機能的であるため、これをもちいた移動様式の解明を行いたいと考えている。
- (2) 合成ペプチド耐性突然変異体として、40 以上の突然変異体を既に単離した。そのうち、SOL2, CLI1 を既に同定、報告している。
- (3) ペプチドが糖鎖修飾を受けていることが判明したため、現在、糖鎖修飾付の合成ペプチド合成を試みている。これを用いて、生化学的なアッセイを行う。
- (4) ペプチドホルモン遺伝子の過剰発現には耐性で、合成ペプチドには感受性を示す突然変異体は、ペプチドホルモンの生成段階に必要なことが示唆される。シロイヌナズナの sol1 突然変異体はその候補として同定出来た。また、ペプチドホルモンに相当するアミノ酸配列の直前の配列に、プロテアーゼ阻害剤を結合させ、さらに、ビオチンを結合させた合

成ペプチドを作成した。これを用いて、タンパク質免疫沈降法を利用して、ペプチダーゼの候補を多数単離した。

(5) 顕微操作によるペプチドの茎頂への塗布系開発を行っている。現在、細胞単位でペプチドを塗布出来るようになってきている。

(6, 7) ゼニゴケ、ヒメツリガネゴケ、セラジネラ、カニクサなど、様々なコケ植物、シダ植物を利用してペプチドアッセイや分子遺伝学的解析を行っている。その結果、ゼニゴケでは表皮細胞の分化に関わること、ヒメツリガネゴケでは原系体の細胞伸長に関わるなど、様々な機能が明らかとなった。

3. 現在までの達成度

当初の計画以上に進展している。

(理由)

特に、シグナル伝達系の下流因子の探索により、候補突然変異体が多数単離された。これは、想像以上のものであり、原因遺伝子単離も既に2つ成功している。また、ゼニゴケを利用した実験系の確立もおこなうことができ、様々な植物でのペプチドの機能が明らかになりつつあるが、ゼニゴケを利用出来るようになったのは、予想外で、これにより、格段に研究スピードも向上した。

4. 今後の研究の推進方策

- (1) 4 番目のアミノ酸に蛍光物質を結合した合成ペプチドは体内で機能的であるため、これをマイクロインジェクションや顕微操作により、植物に添加し、移動様式を明らかにする。

(2) 40以上の突然変異体の全ての候補において、原因遺伝子の単離を完了する。

(3) 糖鎖修飾のある合成ペプチドを利用して、我々の単離した受容体との結合アッセイを生化学的に行う。

(4) 候補ペプチダーゼの生化学的、遺伝学的アッセイを行う。

(5) 顕微操作によるペプチドの、葉序に与える影響を調査する。

(6、7) 特にゼニゴケを利用した系が確立できたため、今後は、これを発展させ、コケ植物におけるペプチドの機能解明を行い、分子進化、機能進化について議論する。

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14件)

1 ; Miwa, H., Tamaki, T, Fukuda, H., and Sawa, S. (2009) Evolution of CLE signaling. *Plant Signaling & Behavior* 4: 477-481.

2 ; Naramoto, S., Sawa, S., Koizumi, K., Uemura, T., Ueda, T., Friml, J., Nakano, A., and Fukuda, H. (2009) Phosphoinositide-dependent regulation of VAN3 ARF-GAP localization and activity essential for vascular tissue continuity in plant. *Development* 136 (9):1529-38

3 ; Miwa, H., Kinoshita, A., Fukuda, H., and Sawa, S. (2009) Plant meristems: CLV3/ESR-related signaling in the shoot apical meristem and the root apical meristem. *J. Plant Res.* 122: 31-39.

4 ; Hirakawa, Y., Shinohara, H., Kondo, Y., Inoue, A., Nakanomyo, I., Ogawa, M., Sawa, S., Ohashi-ito, K., Matsubayashi, Y., and Fukuda, H. (2008) Non-cell-autonomous control of vascular stem cell fate by a CLE peptide/receptor system. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 105: 15208-15213.

5 ; Miwa, H., Betsuyaku, S., Iwamoto, K., Kinoshita, A., Fukuda, H., and Sawa, S. (2008) The receptor-like kinase SOL2

mediates CLE signaling pathway in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol.* 49: 1752-1757.

6 ; Sawa, S., Kinoshita, A., Betsuyaku S., and Fukuda, H. (2008) A large family of genes that share homology with CLE domain in *Arabidopsis* and rice. *Plant Signaling & Behavior.* 3: 337-339

7 ; Fukunaga, H., Sawa, S. and Sawa, Y. (2008) A new form of *Lecanorchis kiusiana* (Orchidaceae) from Kochi, Japan. *The Orchid Review.* 116: 106-108

8 ; 福永裕一、澤進一郎、澤完 (2008) 四国におけるハルザキヤツシロラン、アキザキヤツシロラン、及びクロヤツシロランの分布分類 8: 141-147

9 ; Kinoshita, A., Nakamura, Y., Sasaki, E., Kyojuka, J., Fukuda, H., and Sawa, S. (2007) Gain-of-function phenotypes of chemically synthetic CLAVATA3/ESR-related (CLE) peptides in *Arabidopsis thaliana* and *Oryza sativa*. *Plant Cell Physiol* 48: 1821-1825.

10 ; Fukuda, H., Hirakawa, Y., and Sawa, S. Peptide signaling in vascular development. (2007) *Curr Opin Plant Biol.* 10: 477-482

11 ; Ohto, M., Hayashi, S., Sawa, S., Ohta, A. H., and Nakamura, K. (2007) Involvement of HLS1 in sugar and auxin signaling in *Arabidopsis* leaves. *Plant Cell Physiol.* 47: 1603-1611.

12 ; 福永裕一、澤進一郎、澤完 野生動物の摂食行動がカンアオイ類の種子散布に与える影響 *Nature study* (2009) 55,161-163

13 ; 福永裕一、澤進一郎、澤完 カンアオイ類の種子散布に関するアリの観察 *Nature study* (2010) 56,5-6

14 ; Sawa, S. (2008) Basic analysis for the defense of soybean cyst nematodes by using synthetic peptides. Soy Protein Research. 11, 40-44

〔学会発表〕(計15件)招待講演のみ
(その他 共同研究者による発表、多数)

1 ; 茎頂分裂組織における CLV シグナル伝達系の解析 澤進一郎 GRL バイオサイエンスセミナー 静岡大学 2009年12月11日

2 ; CLVATA signaling in meristem maintenance Shinichiro Sawa, Institute semina, Temasek Life Sciences Laboratory, Singapore 2010,

3 ; Lecture for plant meristem Shinichiro Sawa, National University of Singapore, Singapore 2010,

4 ; 澤進一郎 植物の分裂組織の機能維持に関する CLE ペプチド解析 生命科学青葉山セミナー、東北大学 2009.9.7

5 ; Shinichiro Sawa CLE peptide function in meristem size maintenance in Arabidopsis. 2009.9.18. Faculty seminar; Seoul National University, Seoul, Korea.

6 ; 澤進一郎 シロイヌナズナの茎頂分裂組織維持に関する CLV シグナル伝達系の解析 2008.12.19-20 遺伝研研究会 遺伝学研究所

7 ; Shinichiro Sawa CLE peptide signaling in meristem maintenance. 2008.12.11. BMB2008 symposium, Kobe

8 ; Shinichiro Sawa CLE peptide signaling in meristem maintenance. 2008.6.9-10. Japan-Korea Symposium - Plant Growth and Signal Transduction, RIKEN, Yokohama.

9 ; Shinichiro Sawa CLE peptide function in meristem size maintenance in Arabidopsis. 2008.5.6. Institute seminar;

University of Duesseldorf. Germany.

10 ; 澤進一郎 CLE ペプチドの機能解析 2008.1.11. 遺伝研研究会 遺伝学研究所

11 ; 澤進一郎 メリステムの維持等の形態形成に関わる CLE ペプチドの解析 2007.12.21. 東京大学農学部セミナー

12 ; 澤進一郎 メリステムの維持等の形態形成に関わる CLE ペプチドの解析 2007.11.1. 植物の成長・分化を制御する生理活性ペプチドと microRNA シンポジウム 基礎生物学研究所

13 ; 澤進一郎 植物の維管束形成・茎頂分裂組織の構築に関する CLE ペプチドの解析 2007.10.16. 日本女子大学 理学部セミナー

14 ; 澤進一郎 茎頂分裂組織の構築に関する CLAVATA3 遺伝子の解析 2007.6.15. 理研植物科学センターセミナー 横浜理研

15 ; 澤進一郎 多細胞植物の空間認識機構に関する CLE ペプチドと LRR-RLK の解析 2007.2.15. 京都大学理学部生物科学セミナー 京都大学

〔図書〕(計5件)

1 ; 澤進一郎(2009) 東大式現代科学用語ナビ, 低分子ペプチド 東京化学同人 114-115

2 ; 小柴共一、澤進一郎(2010) オーキシン、新しい植物ホルモンの科学、第2版、小柴、神谷編、講談社

澤進一郎(2008) 植物の発生 ベーシックマスター発生生物学 八杉貞雄監修 オーム社

3 ; 澤進一郎、福田裕穂 (2007) 植物の維管束形成・茎頂分裂組織の構築に関する CLE ペプチドホルモン、蛋白質核酸酵素 52: 18-24

4 ; 東山哲也、澤進一郎 (2007) 植物の発生と形態形成、バイオサイエンス バイオサイエンス研究会編オーム社、115-121

5 ; 澤進一郎ら共著 植物ゲノム科学事典
(2007) (朝倉書店) in Press

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況 (計 1 件)

名称：stress-responsive root specific genes
発明者：Setsuko Komatsu, Tomokazu Koshiha, Shinichiro Sawa
権利者：農業生物資源研・都立大・東大
種類：US patent
番号：US7605303B2
取得年月日：2009.
国内外の別：国外

〔その他〕

植物学会奨励賞受賞 2007 年
日本植物学会