

研究種目：特定領域研究

研究期間：2007～2012

課題番号：19060001

研究課題名（和文） 茎頂及び根端メリステム新生の共通基盤となる細胞増殖統御系

研究課題名（英文） Cell proliferation-controlling system as fundamental to de novo formation of shoot and root apical meristems

研究代表者

杉山 宗隆 (SUGIYAMA MUNETAKA)

東京大学・大学院理学系研究科・准教授

研究者番号：50202130

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：RNA プロセッシング、温度感受性突然変異体、細胞増殖、シロイヌナズナ、シュート再生、側根原基、メリステム、帯化

1. 研究計画の概要

側根や不定根、不定芽の形成においては、予め定まっていなかった場所で、秩序立った細胞増殖が始まり、メリステムが新たに形成される。またカルスからの器官再生では、既存の位置情報が損なわれた中で、細胞増殖の秩序が回復し、メリステムが生じる。本研究では、シロイヌナズナの器官再生に関わる温度感受性突然変異体 (*srd2*, *rid1*, *rrd1*, *rrd2*, *rid4*, *rid3*, *rpm2*) について以下の解析を行い、それらを通して、こうしたメリステム新生の基盤をなす、自律的細胞増殖統御系の解明を目指す。

(1) *srd2* と *rid1* はメリステム新形成と脱分化の両方が強い温度感受性を示す点特徴的な突然変異体であり、いずれの変異体でもメリステム形成不全は原基的な細胞増殖の持続と関係している。*SRD2* の snRNA 転写活性化への関与を一つの手掛かりとしてメリステム形成不全の原因の解析を進め、*RID1* の解析も合わせて、メリステム新生時の増殖制御機構を追究する。

(2) *rrd1*, *rrd2*, *rid4* は細胞増殖全般に弱い温度感受性を示す一方、制限温度下で帯化根を形成する変異体である。この場合の帯化は、原基形成時に細胞増殖域の十分に限定されずメリステムが拡大することによる。これらの変異体の分子遺伝学的解析により、増殖域限定化の分子機構を明らかにする。

(3) *rid3* と *rpm2* はメリステムの新形成に限って強い温度感受性を示し、他の変異体とは違った形で細胞増殖統御が乱れている。*RID3* は新規 WD40 タンパク質をコードしており、

CUC-STM 経路の遺伝子発現に関わっている。*RID3* の関わる分子事象と *rpm2* 変異体の解析から、細胞増殖統御系の構成因子を同定していく。

2. 研究の進捗状況

側根形成過程とシュート再生過程に着目した解析により、メリステム新生の基盤として細胞増殖統御に働く遺伝子群を捉えつつある。RNA プロセッシングとの関連が窺われる遺伝子が多いが、これまで解析されたことがないものがほとんどであり、全く新しい増殖制御機構の発見につながることも期待できる状況となっている。

(1) 制限温度下で誘導した *srd2* 変異体の側根において、snRNA 量の減少と *PIN1* の発現低下、オーキシンの一様な蓄積が起き、細胞増殖パターンが乱れることを明らかにした。また、*RID1* 遺伝子が RNA ヘリカーゼの一種をコードしていることを突き止めた。こうした解析の結果から、*srd2* と *rid1* のメリステム形成不全がオーキシン極性輸送の破綻によること、その原因はプレ mRNA スプライシング能力の低下にあることが示唆された。さらに、転写因子 ANAC082 のアミノ酸置換が、*srd2* や *rid1* の変異形質を広く抑圧することを見出し、細胞増殖制御の要に ANAC082 が位置する可能性を示した。

(2) *RID4* がペンタトリコペプチド (PPR) タンパク質をコードすることは研究開始時に判明していたが、これとは別の PPR タンパク質遺伝子に *rrd2* の温度感受性の原因と思われる変異を検出した。一方 *RRD1* として、ポ

リ A 特異的リボヌクレアーゼ様タンパク質の遺伝子を同定した。帯化根形成に関する表現型解析の結果と合わせ、細胞増殖域を限定する制御機構において、PPR タンパク質がガイドする RNA 分解系が重要な役割を果たしていると推測した。

(3) カルスからシュートが再生する過程を詳細に調べ、カルス表層で *RID3* と *CUC1* が互いを排除し合うような発現パターンを示すこと、*CUC1* 高発現域にメリステムの元となる細胞塊が生じること、*RID3* による *CUC1* 発現の負の制御が細胞の秩序だった増殖に必須であることなどを明らかにした。

3. 現在までの達成度

区分：② おおむね順調に進展している。

理由：計画の(3)は、*RID3* タンパク質と相互作用する因子の探索、*RPD2* 遺伝子の同定など、いくつかの点で予定よりかなり遅れていると言わざるを得ない。しかし、計画(1)と(2)の主要部分は比較的順調に進んでおり、(1)の関連では、*ANAC082* の変異が *srd2* と *rid1* を抑圧するという、予定外の大きな発見もあった。これらを考え合わせると、全体としてはおおむね順調に進展していると判断される。

4. 今後の研究の推進方策

(1) *srd2* と *rid1* に関しては、これらの変異によるプレ mRNA スプライシング能力の低下が、どうして *PIN1* の発現を選択的に抑制するのか、その結果として起きる細胞増殖の異常を、どうして変異 *ANAC082* は抑圧できるのか、この2点に焦点を当てて解析を進める。

(2) *rrd1*、*rrd2*、*rid4* を用いた研究では、PPR タンパク質に依存した RNA 分解が細胞増殖域の限定化にはたらく、という作業仮説を検証する形で解析を進める。とくに分解の標的となる RNA の同定を今後の最重要課題の一つに位置づけており、これを突破口に研究の大展開を図りたいと考えている。

(3) *RID3* については、タンパク質間相互作用をもとに関連因子の探索を行い、その中から分子機能の糸口を見出していく。*CUC1* の発現制御と結びつけられるような因子に辿り着くことを期待している。*rdp2* は、表現型が予想以上に不安定で、解析が難航している。今後は *rdp2* の解析には固執せず、この方面の研究は *rid3* に集中して進めることも考えている。

以上のほか、根の先端成長の細胞動力学的・数理的解析を行い、温度感受性変異体の分子遺伝学的解析だけでは捉えられない細胞増殖制御の側面も追究していく。本研究の最終段階では、得られた知見を整理し、細胞増殖制御システムの要素機構としてまとめ上げる。

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4件)

- (1) 杉山 宗隆 (2009) 植物の再生. 化学と教育 57: 458-461. 査読有り
- (2) Hiroaki Tamaki, Mineko Konishi, Yasufumi Daimon, Mitsuhiro Aida, Masao Tasaka, Munetaka Sugiyama (2009) Identification of novel meristem factors involved in shoot regeneration through the analysis of temperature-sensitive mutants of Arabidopsis. *The Plant Journal* 57: 1027-1039. 査読有り
- (3) Misato Ohtani, Taku Demura, Munetaka Sugiyama (2008) Differential requirement for the function of *SRD2*, an snRNA transcription activator, in various stages of plant development. *Plant Molecular Biology* 66: 303-314. 査読有り

[学会発表] (計31件)

- (1) 岩元 明敏, 近藤 衣里, 杉山 宗隆: 植物の先端成長パターンの定量解析と数理モデル化の試み. 第51回日本植物生理学会年会, 2010年3月20日, 熊本
- (2) 大谷 美沙都, 杉山 宗隆: 植物の発生における snRNA 転写のダイナミズム~シロイヌナズナ *SRD2* 遺伝子の解析を通して~. 第50回日本植物生理学会年会, 2009年3月24日, 名古屋.

[図書] (計0件)

[産業財産権]

- 出願状況 (計0件)
- 取得状況 (計0件)

[その他]

研究室ホームページ

<http://www.bg.s.u-tokyo.ac.jp/koishikawa/research/sugi-lab/sugi-1.html>