

研究種目：特定領域研究

研究期間：2007～2012

課題番号：19060006

研究課題名（和文） 根系構築の基礎となる根端メリステムの発生機構

研究課題名（英文） DEVELOPMENTAL MECHANISMS OF ROOT APICAL MERISTEMS THAT ARE ESSENTIAL FOR CONSTRUCTION OF ROOT SYSTEM

研究代表者

深城 英弘 (HIDEHIRO FUKAKI)

神戸大学・大学院理学研究科・准教授

研究者番号：80324979

研究代表者の専門分野：植物発生遺伝学

科研費の分科・細目：植物生理・分子

キーワード：メリステム、側根形成、オーキシン、転写制御因子

## 1. 研究計画の概要

維管束植物の根系構築の基礎となる根端メリステム、特に側根メリステムの発生機構の解明を目的として、モデル植物であるシロイヌナズナを用いて以下の研究を行う。

(1) オーキシン応答転写因子 ARF と Aux/IAA タンパク質、およびオーキシン誘導性 LBD/ASLs などの転写制御因子を介した側根形成開始の分子カスケードを明らかにする。

(2) 側根メリステムに異常を示す新たな変異体の分子遺伝学的解析から、側根メリステム形成・維持機構を明らかにする。

## 2. 研究の進捗状況

(1) 側根形成開始の分子カスケードの解析  
①側根形成開始における LBD/ASL 遺伝子群の機能解析：シロイヌナズナ *LBD16/ASL18* は転写因子 ARF7/19 の標的遺伝子として側根形成を正に制御する。*LBD16* を含む4つのオーキシン誘導性 LBD/ASLs (*LBD16, 17, 29, 33*) は根で特異的に発現するが、単一および二重変異体では側根形成に顕著な表現型を示さない。そこで *LBD16* ゲノム制御下で *LBD16* に転写抑制ドメイン (SRDX) を付加した *LBD16-SRDX* を発現する植物 (*gLBD16-SRDX*) を作出して解析したところ、側根形成特異的な欠損を示し、側根形成を開始する内鞘細胞 (原生木部に接する内鞘細胞) の不等分裂が強く抑制されることを見出した。このことから *LBD16* を含む複数の LBD/ASLs が側根形成開始を正に制御することが強く示唆された。また、*LBD16-GFP* を *LBD16* ゲノム制御下で発現する植物 (*gLBD16-GFP*) の解析から、*LBD16* が側根形成開始前の内鞘細胞で誘導されることを明らかにした。

②側根形成で機能する *LBD16* 標的遺伝子の解析： *LBD16* 機能誘導型植物 (*35S::LBD16-GR/arf7 arf19*) を用いたアレキ解析により *LBD16* 標的遺伝子候補を多数同定した。このうち、側根形成部位で発現する *LLPL2* 遺伝子 (機能未知タンパク質をコード) の詳細な発現解析から、*LLPL2* が側根形成開始の内鞘不等分裂を起こす細胞で特異的に誘導されることがわかった。

(2) 側根メリステム形成・維持機構の解析  
①側根形成能が低下する *crane* 変異体の解析：*crane* 変異体の表現型解析を行い、原因遺伝子が Aux/IAA ファミリーの *IAA18* であること、および *IAA18* が側根形成開始部位で発現することを明らかにした。

②側根メリステム維持における *FBA1* の機能解析：側根メリステム維持に異常を示す *LR11-4* 変異体の表現型解析を行い、原因遺伝子がカルビン回路で働くことされる *FBA1* (Fructose 1,6-bisphosphate aldolase) であること、および *FBA1* が根のプラスチドで強く発現することを示した。

③側根形成能が顕著に低下する *fewer roots* (*fwr*) 変異体の解析：*fwr* 変異体の表現型解析を行い、マップベースクローニングにより、これが細胞内小胞輸送に関わる Arf-GEF タンパク質 *GNOM* の弱い変異体アリルであることを明らかにした。

④側根形成開始における *RLF* 遺伝子の機能解析：側根形成能が顕著に低下する *reduced lateral root formation* (*r1f*) 変異体の解析から、*RLF* は側根形成開始の内鞘細胞分裂をオーキシン応答とは独立に調節することを示した。また *RLF* 遺伝子が cytochrome b<sub>5</sub> heme/steroid binding domain タンパク質を

コードすることを明らかにした。

### 3. 現在までの達成度

①当初の計画以上に進展している。

(理由)「(1)側根形成開始の分子カスケードの解析」では、側根形成開始におけるLBD16の役割および発現パターンを詳細に明らかにするとともに、LBD16の標的遺伝子候補を複数同定するに至った。また、「(2)側根メリステム形成・維持機構の解析」においては、複数の変異体(*crane*, LR11-4, *fwr*, *r1f*)の表現型解析をほぼ終了させ、さらにすべての変異体の原因遺伝子を同定することに成功した。このうち*crane*変異体、および*r1f*変異体の解析に関する論文をすでに公表済である(Uehara et al., 2007; Ikeyama et al., 2010)。平成20年度から実験補助として博士研究員1名と技術補佐員1名を雇用することにより、当初の計画以上に進展した。

### 4. 今後の研究の推進方策

「(1)側根形成開始の分子カスケードの解析」では、側根形成におけるLBD16および他LBD/ASLメンバーの解析、LBD16標的遺伝子の機能解析に焦点を当てる。「(2)側根メリステム形成・維持機構の解析」では、LR11-4変異体の原因遺伝子産物FBA1の機能解析、*fwr*変異体のサプレッサー変異体の探索と解析、根端メリステム形成におけるRLFタンパク質の分子機能の解析を主に行う。平成22年度以降も博士研究員と技術補佐員を1名ずつ雇用し、連携研究者(神戸大学・三村徹郎)、研究代表者の指導学生、および国内外の研究協力者の協力のもと研究をさらに推進させる予定である。

### 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12件)

①Overvoorde, P., Fukaki, H. and Beeckman, T. Auxin control of root development. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* In press (2010) 査読あり.

②Ikeyama, Y., Tasaka, M. and Fukaki, H. RLF, a cytochrome b<sub>5</sub> heme/steroid binding protein, controls for lateral root formation independently of ARF7/19-mediated auxin signaling in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.* DOI: 10.1111/j.1365-3113.2010.04199.x (2010). 査読あり

③ Fukaki, H. and Tasaka M. Hormone interactions during lateral root

formation. *Plant Mol. Biol.* 69: 437-449 (2009). 査読あり

④Uehara, T., Okushima, Y., Mimura, T., Tasaka, M. and Fukaki, H. Domain II mutations in CRANE/IAA18 suppress lateral root formation and affect shoot development in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.* 49: 1025-1038 (2008). 査読あり

⑤Hirota, A., Kato, T., Fukaki, H., Aida, M. and Tasaka, M. The auxin-regulated AP2/EREBP gene *PUCHI* is required for morphogenesis in the early lateral root primordium of *Arabidopsis*. *Plant Cell* 19, 2156-2168 (2007). 査読あり

[学会発表] (計41件)

[図書] (計1件)

[その他]

①研究代表者の研究室ホームページ  
[http://www.research.kobe-u.ac.jp/fsci-fukaki/fukaki/fukaki\\_laboratory.html](http://www.research.kobe-u.ac.jp/fsci-fukaki/fukaki/fukaki_laboratory.html)

②特定領域「植物メリステム」ホームページ  
[http://www.bio.nagoya-u.ac.jp/~yas/tokutei\\_plant\\_meristems/index.html](http://www.bio.nagoya-u.ac.jp/~yas/tokutei_plant_meristems/index.html)