

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 4 日現在

機関番号：82401

研究種目：新学術領域研究（研究領域提案型）

研究期間：2010～2014

課題番号：22119010

研究課題名（和文）環境変動に応答した植物の細胞、器官サイズ制御

研究課題名（英文）Plant growth in response to environment

研究代表者

杉本 慶子（SUGIMOTO, Keiko）

独立行政法人理化学研究所・環境資源科学研究センター・チームリーダー

研究者番号：30455349

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 60,800,000円

研究成果の概要（和文）：植物の成長は様々な環境要因によって大きく影響を受ける。本研究では、能動的な細胞成長制御が環境変動下での成長戦略として重要な機能となっていると考え、細胞成長制御機構の分子実体の解明を目指した。特に植物に特有な転写因子 GTL1の機能解析を進め、GTL1がCCS52A1遺伝子の発現を低下させることによって核内倍加周期を終了し、その結果細胞成長を抑制することを見いだした。これらの成果から、植物が核相依存的な機構と非依存的な機構を通して細胞成長を制御し、環境変化に応じて器官成長を調節するしくみの一端が明らかになった。

研究成果の概要（英文）：Plant organ growth is influenced by various forms of environmental stress. We have recently identified a plant-specific transcriptional regulator, GTL1, that acts as a brake for cell growth and in this study we investigated its role in fine-tuning organ growth in response to the environmental stress. Through genome-wide microarray and chromatin immunoprecipitation experiments, we have shown that GTL1 directly targets the CCS52A1 gene and represses its expression to terminate endocycle and thus cell growth. We also showed that GTL1 modulates cell growth in response to the nutritional supply.

研究分野：植物分子細胞生物学

キーワード：細胞伸長 サイズ制御 シロイヌナズナ 核内倍加 転写制御

1. 研究開始当初の背景

植物の成長は、光や温度、水分、栄養といった環境要因によって大きく影響を受ける。一般的に厳しい環境の下で生育する植物の成長は遅延、停滞するが、最近の研究からこうした生育遅延が単なる成長阻害ではなく、積極的な成長戦略として起きていることが分かってきている。私たちはこれまでに細胞の伸長成長を抑制する分子機構を明らかにしてきており、こうした能動的な成長の抑制機構が環境変動下での巧みな成長戦略の一環として機能すると考えている。そこで環境変動に応答した植物の細胞・器官サイズの制御機構を明らかにすることで、植物が困難な環境を突破するしくみの解明を目指した。

2. 研究の目的

シロイヌナズナをはじめとする多くの植物では、細胞が増殖期から分化期へ移行するのに伴って、DNA複製と細胞分裂を交互に行う細胞分裂周期から、細胞分裂を伴わずDNA複製のみ行う核内倍化周期へ転換する。いったん核内倍化周期に移行した細胞は核内のDNA量を上昇させながら分化を続け、それに伴って細胞も伸長成長する。私たちは、細胞の成長制御機構の解析を行うモデルとして、まず葉のトライコーム毛細胞に着目し、トライコームの細胞成長の制御因子として植物に特有のトライヘリックス型転写因子GT2 LIKE1 (GTL1)を単離した。*gtl1*欠損変異株のトライコームは野生株と比較して大きなトライコームを形成する。一方で、*GTL1*よりも早いタイミングで発現する遺伝子である*GL2*や*ATML*のプロモーター制御下で*GTL1*を発現させると、通常よりも小さなトライコームが形成される。これらの結果は、*GTL1*の発現するタイミングがトライコームの大きさを制御することを示している。本研究では、まず*GTL1*がどのようにしてトライコームの大きさを制御しているのかを明らかにするために*GTL1*によって直接制御される遺伝子の同定を試みた。

*GTL1*はトライコーム以外の組織でも発現が見られる一方で、*gtl1*欠損変異株の表現型はトライコームに限定されていることから、他の組織では別の因子が冗長的に機能していることが示唆されていた。そこで、*GTL1*と配列上の類似性の高い*DF1*にも注目して解析を行った。

3. 研究の方法

GTL1、*DF1*の直接下流遺伝子の同定には、ゲノムワイドのクロマチン免疫沈降解析、発現解析を行い、*GTL1*、*DF1*が直接プロモーター領域に結合し、発現を抑制する遺伝子を単離した。これらの遺伝子のマーカーライン

を作成し、*gtl1 df1*変異体に導入して機能関係を調べたほか、*gtl1 df1 ccs52a1*三重変異体を作成し、遺伝子発現と表現型の相関関係を検証した。

4. 研究成果

*GTL1*は*CCS52A1*と呼ばれる遺伝子のプロモーター領域に直接結合し、その遺伝子発現を低下させることがわかった。これまでの研究から*CCS52A1*はコピキチンリガーゼ anaphase-promoting complex/cyclosome (APC/C)のアクティベーターとして働くことにより、核内倍加周期を促進する事が知られていた。その後の分子遺伝学的な解析から、*GTL1*は*CCS52A1*遺伝子の発現を低下させることによって核内倍加周期を終了させ、細胞成長を抑制することが明らかになった。

また*gtl1 df1*の二重変異株の表現型解析から、*gtl1 df1*では野生株と比較して根毛が長くなることがわかった。さらに、*EXPANSIN7*プロモーターを用いて根の表皮細胞特異的に*GTL1*および*DF1*を過剰発現させると、どちらの場合も根毛の伸長成長を著しく抑制することがわかった。これらの結果は*GTL1*と*DF1*が根毛細胞の成長を抑制する因子として冗長的に機能することを示していた。根毛は根の表面積を増やし土壌中の無機栄養素を効率的に吸収するための組織で、リン酸をはじめとする土壌栄養素の濃度に応答して適切な長さに制御されている。例えば、リン酸の不足した土壌中では根毛の成長は促進され、リン酸を過剰に含んだ土壌では根毛の成長は抑制される。*GTL1*と*DF1*がこのような環境に応答した細胞成長を制御しているかどうかを確かめるために、リン酸濃度を変えた培地に*gtl1 df1*二重変異株を生育させたところ、二重変異株は高リン酸条件下でも根毛の成長抑制が起こらないことを発見した。さらに*gtl1 df1 ccs52a1*三重変異株においてもリン酸による根毛の成長抑制が見られなかったことから、根毛の成長抑制はトライコームとは異なるメカニズムで制御されていることがわかった。そこで新たに根毛細胞における*GTL1*のターゲットの探索を行い、根毛の成長を促進する転写因子を見出した。この転写因子はリン酸に応答して発現調節が行われることが報告されており、*GTL1*がその発現量を調節することで環境に応答した根毛の伸長成長を調節していることが明らかになってきた。

さらに、*GTL1*の解析と並行して根毛の成長制御に注目した解析を進め、細胞の成長を負に制御する転写因子を新たに発見した。この転写因子の下流因子の探索を行ったところ、*GTL1*と共通する根毛の成長を正に制御する因子を見出したほか、根毛細胞の分化を

制御する GL2 とも下流因子のオーバーラップが見られ、環境要因から根毛成長に至る過程で、細胞分化と成長が協調的に制御されている可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

(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 17 件)

- 1) Ikeuchi M, Iwase A, Rymen B, H Harashima H, Shibata M, Ohnuma M, Breuer C, Morao AK, de Lucas M, De Veylder L, Goodrich J, Brady SM, Roudier F, and Sugimoto K. PRC2 represses dedifferentiation of mature somatic cells in Arabidopsis. *Nature Plants*. 査読有(2015) (in press)
- 2) Kobayashi K, et al. Transcriptional repression by MYB3R proteins regulates plant organ growth. *EMBO J*, 査読有(2015) (in press)
- 3) Sugimoto K. Plant Cell Reprogramming - history, current status and future perspectives - *J of Plant Res* 査読有(2015) 128: 345-347. DOI 10.1105/tpc.113.116053
- 4) Iwase A, et al. (2015) WIND1-based acquisition of regeneration competency in Arabidopsis and rapeseed. *J of Plant Res* 査読有 128: 389-397. (2015) DOI 10.1007/s10265-015-0714-y
- 5) Breuer C, Braidwood L, and Sugimoto K. Endocycling in the path of plant development. *Curr Opin Plant Biol* 査読有 17: 78-85. (2014) DOI 10.1016/j.pbi.2013.11.007
- 6) Braidwood L, Breuer C, and Sugimoto K. My body is a cage: Mechanisms and modulation of plant cell growth. *New Phytol* 査読有 201: 388-402. (2014) DOI: 10.1111/nph.12473
- 7) Iwase A, et al. Arabidopsis WIND1 induces callus formation in rapeseed, tomato and tobacco. *Plant Signal & Behav* 査読有 8(12): e27432. (2014) DOI: 10.4161/psb.27432
- 8) Noir S, Bömer M, Takahashi N, Ishida T, Tsui TL, Balbi V, Shanahan H, Sugimoto K, Devoto A. Jasmonate controls leaf growth by repressing cell proliferation and the onset of endoreduplication while maintaining a potential stand-by mode. *Plant Physiol*. 査読有 161 (4):1930-51. (2013) doi: 10.1104/pp.113.214908
- 9) Hisagana T, Ferjani A, Horiguchi G, Ishikawa N, Fujikura U, Kubo M, Demura T, Fukuda H, Ishida T, Sugimoto K, Tsukaya H. The ATM-dependent DNA damage response acts as an upstream trigger for compensation in the fast1 mutation during Arabidopsis leaf development. *Plant Physiol*. 査読有 162(2):831-841. (2013)doi: 10.1104/pp.113.216796
- 10) Kobayashi K, Sasaki D, Noguchi K, Fujinuma D, Komatsu H, Kobayashi M, Sato M, Toyooka K, Sugimoto K, Niyogi KK, Wada H, Masuda T. Photosynthesis of Root Chloroplasts Developed in Arabidopsis Lines Overexpressing GOLDEN2-LIKE Transcription Factors. *Plant Cell Physiol*. 査読有 54 (8):1365-77. (2013)doi:10.1093/pcp/pc086
- 11) Lyons R, Iwase A, Gaensewig T, Sherstnev A, Duc C, Barton G, Hanada K, Higuchi-Takeuchi M, Matsui M, Sugimoto K, Kazan K, Simpson G, and Shirasu K. The RNA-binding protein FPR regulates flg22-triggered defense responses and transcription factor activity by alternative polyadenylation. *Sci Rep* 査読有 doi: 10.1038/srep02866. (2013)
- 12) Ikeuchi M, Sugimoto K, Iwase A. Plant Callus: Mechanisms of Induction and Repression. *Plant Cell* 査読有 25: 3159-3173. (2013)doi:10.1105/tpc.113.116053
- 13) Breuer C, Morohashi K, Kawamura A, Takahashi N, Ishida T, Umeda M, Grotewold E, and Sugimoto K. Transcriptional repression of the APC/C activator CCS52A1 contributes to the active termination of cell growth. *EMBO J* 査読有(2012) 31: 4488-4801
- 14) Ishida T, Yoshimura M, Miura K, and Sugimoto K. MMS21/HPY2 and SIZ1, two Arabidopsis SUMO E3 ligases, have distinct functions in development. *PLoS ONE* 査読有 (2012) doi: 10.1038/emboj.2012.294
- 15) Schneider K, Breuer C, Kawamura A, Jikumaru Y, Hanada A, Fujioka S, Ichikawa T, Kondou Y, Minami M, Kamiya Y, Yamaguchi S, and Sugimoto K. Arabidopsis PIZZA has the capacity to acylate brassinosteroids. *PLoS ONE*. 査読有

(2012)doi:0.1371/journal.pone.0046805

- 16) Iwase A, Ohme-Takagi M and Sugimoto K. WIND1: A key molecular switch for plant cell dedifferentiation. *Plant Signal Behav* 査読有 6(12): 1943-1945 (2011) DOI:10.4161/psb.6.12.18266
- 17) Iwase A, Mitsuda N, Koyama T, Hiratsu K, Kojima M, Arai T, Inoue Y, Seki M, Sakakibara H, *Sugimoto K and *Ohme-Takagi M. The AP2/ERF transcription factor WIND1 controls cell dedifferentiation in Arabidopsis. *Curr Biol* 査読有 21(6): 508-514 (2011)doi: 10.1016/j.cub.2011.02.020
*Co-corresponding author

[学会発表](計 33 件)

- 1) 杉本慶子: Epigenetic control of cellular reprogramming in plants 第 37 回日本分子生物学会年会 (2014 年 11 月 25 日、パシフィコ横浜、横浜市)
- 2) 鈴木 俊哉、Christian Breuer、石田 喬志、鈴木 孝征、東山 哲也、杉本慶子、伊藤 正樹: 植物特異的な GRAS ファミリー転写因子による細胞周期の制御、第 37 回日本分子生物学会年会 (2014 年 11 月 26 日、パシフィコ横浜、横浜市)
- 3) Keiko Sugimoto: Epigenetic control of cellular reprogramming in plants France-Japan workshop (2014 年 10 月 28 日、東京大学、文京区)
- 4) 岩瀬 哲、池内 桃子、杉本慶子: WINDs mediated-plant cell dedifferentiation pathway under environmental stresses, The 38th Naito Conference on Molecule-based biological systems (2014 年 10 月 7 日、シャトレーゼガトーキングダムサッポロ、北海道)
- 5) 池内 桃子、岩瀬 哲、杉本慶子: Differentiated status of post-mitotic root cell is actively maintained by PRC2, The 38th Naito Conference on Molecule-based biological systems (2014 年 10 月 7 日、シャトレーゼガトーキングダムサッポロ、北海道)
- 6) 杉本慶子、池内 桃子、岩瀬 哲: 環境ストレスによる細胞分化制御 第 78 回日本植物学会年会 (2014 年 9 月 12 日、明治大学、神奈川)
- 7) 池内 桃子、岩瀬 哲、小嶋美紀子、榊原均、杉本慶子: 傷誘導カルス形成における遺伝子制御ネットワーク、日本植物学会第 78 回大会、(2014 年 9 月 12 日、明治大学、神奈川)
- 8) Keiko Sugimoto: Cellular basis of plant development and environmental response UK-Japan workshop (2014 年 3 月 6 日、理化学研究所、神奈川)
- 9) 岩瀬 哲、大沼万里子、池内 桃子、原島洋文、杉本慶子: ESR1 functions downstream of WIND1 to mediate wound-induced cell reprogramming in Arabidopsis, 第 55 回日本植物生理学会年会 (2014 年 3 月 18 日、富山大学、富山)
- 10) 池内 桃子、岩瀬 哲、小嶋美紀子、榊原均、杉本慶子: Transcriptional dynamics underlying wound-induced callus formation, 第 55 回日本植物生理学会年会 (2014 年 3 月 18 日、富山大学、富山)
- 11) Christian Breuer, 河村彩子、杉本慶子: Transcriptional regulation of post-mitotic cell growth by GT2 transcription factors, 第 55 回日本植物生理学会年会 (2014 年 3 月 18 日、富山大学、富山)
- 12) 大沼万里子、岩瀬 哲、光田展隆、池内 桃子、肥塚千恵、川本幸一、今村順、江面 浩、杉本慶子: Arabidopsis WIND1 promotes callus formation in rapeseed, tomato and tobacco, 第 55 回日本植物生理学会年 2014 年会 (2014 年 3 月 18 日、富山大学、富山)
- 13) 鈴木俊哉、Christian Breuer、石田 喬志、杉本慶子、伊藤正樹: 細胞周期の制御に關与する GRAS ファミリー転写因子、第 55 回日本植物生理学会年会 (2014 年 3 月 18 日、富山大学、富山)
- 14) Christian Breuer、河村彩子、杉本慶子: 細胞成長を積極的にとめるしくみ - 環境変動化の成長戦略として機能するか? 第 54 回日本植物生理学会年会 (2013 年 3 月 21 日、岡山大学、岡山)
- 15) 岩瀬 哲、池内 桃子、大沼万里子、光田展隆、杉本慶子: Plant cell dedifferentiation under environmental stress, 第 54 回日本植物生理学会年会 (2013 年 3 月 21 日、岡山大学、岡山)
- 16) 池内 桃子、岩瀬 哲、杉本慶子: Regulation of cell cycle re-entry during wound-induced callus formation, 第 54 回日本植物生理学会年会 (2013 年 3 月 21 日、岡山大学、岡山)
- 17) 小牧伸一郎、石田 喬志、Nicola Stacey、杉本慶子: Activity of the Anaphase-Promoting Complex/Cyclosome is Required for the Cell Cycle Transition and the Endocycle Progression, 第 54 回日本植物生理学会年会 (2013 年 3 月 21 日、岡山大学、岡山)
- 18) 佐々木大地、岩瀬 哲、杉本慶子、増田建、和田元、小林康一: 傷害に应答した

- 根の緑化にかかわるサイトカイニンシグナル経路、第 54 回日本植物生理学会年会 (2013 年 3 月 21 日、岡山大学、岡山)
- 19) 大沼万里子、池内桃子、岩瀬哲、杉本慶子: Molecular network of plant cell dedifferentiation, 第 54 回日本植物生理学会年会(2013 年 3 月 21 日、岡山大学、岡山)
- 20) 石田喬志、吉村美香、三浦謙治、杉本慶子: シロイヌナズナ SUMO E3 ligase MMS21/HPY2 と SIZ1 の発生制御に関する機能分化、第 54 回日本植物生理学会年会 (2013 年 3 月 21 日、岡山大学、岡山)
- 21) 久永哲也、杉本慶子、塚谷裕一: ATM 依存的 DNA 損傷応答の下流で機能する新奇因子の解析, 日本植物学会第 77 回大会 (2013 年 9 月 13 日、北海道大学、北海道)
- 22) 杉本慶子: Developmental control of plant cell growth ICAR2013 (2013 年 6 月 24 日、Sydney Convention & Exhibition Centre, Australia)
- 23) Keiko Sugimoto: “Transcriptional control of plant cell growth”, IWPMB2013, (2013 年 3 月 26 日、倉敷芸文館、岡山)
- 24) 池内桃子、岩瀬哲、杉本慶子: How to induce cell proliferation in response to wounding, FASEB Science Research Conferences, (USA, 2013 年 8 月 10 日、Vermont Academy Performing Arts Center, USA)
- 25) 岩瀬哲、池内桃子、杉本慶子: ストレスによる細胞リプログラミング、第 77 回日本植物学会大会(2013 年 9 月 13 日、北海道大学、北海道)
- 26) 池内桃子、岩瀬哲、杉本慶子: シロイヌナズナ傷害誘導カルスにおける細胞周期再開機構、第 77 回日本植物学会大会 (2013 年 9 月 13 日、北海道大学、北海道)
- 27) Christian Breuer, 杉本慶子 Transcriptional repression of the APC/C activator CCS52A1 contributes to the active termination of cell growth, 10th International Congress on Plant Molecular Biology, (2012 年 10 月 22 日、ICCJELU, 韓国)
- 28) 小牧伸一郎、杉本慶子「ゲノム倍加への移行を制御する APC/C の機能」日本植物学会第 76 回大会シンポジウム (2012 年 9 月 15 日、兵庫県立大学、兵庫)
- 29) 杉本慶子 Transcriptional control of cell differentiation and dedifferentiation in plant, Departmental seminar series(2012 年 5 月 25 日、Centro

- de Biologia Molecular Severo Ochoa, Spain)
- 30) 杉本慶子 Genetic Control of Cell Differentiation in Plants - A Link to Ploidy Keystone Symposia “Nuclear Events in Plant Gene Expression and Signaling” (2012 年 3 月 8 日、New Mexico Sagebrush Inn & Conference Center, USA)
- 31) Christian Breuer, 杉本慶子 Transcriptional control of plant cell growth」International Symposium “Strategies of Plants Against Global Environmental Change, (2011 年 12 月 8 日、倉敷芸文館、岡山)
- 32) 杉本慶子 Control of differentiation and dedifferentiation in plants」Departmental seminar series (2011 年 5 月 11 日、CNRS, France)
- 33) 杉本慶子 Control of differentiation and dedifferentiation in plants VIB Seminar, (2011 年 5 月 15 日、U-Gent, Belgium)

〔図書〕(計 2 件)

- 1) 池内桃子、岩瀬哲、杉本慶子 (2015) 傷付いた植物はどのように修復・再生するのか *BSJ-review*
http://bsj.or.jp/jpn/general/BSJ-Review_6A_23-30.pdf
- 2) 岩瀬哲、池内桃子、杉本慶子 (2015) カルス形成の分子メカニズム～アクセル因子とブレーキ因子～ *BSJ-review*
http://bsj.or.jp/jpn/general/BSJ-Review_6A_2-22.pdf

〔産業財産権〕

出願状況 (計 1 件)

名称: 植物の脱分化細胞製造方法及び植物細胞の脱分化誘導剤

発明者: 岩瀬哲、池内桃子、杉本慶子

権利者: 岩瀬哲、池内桃子、杉本慶子

種類: 特願

番号: 2014-090532

出願年月日: 2014 年 4 月 24 日

国内外の別: 国内

〔その他〕

ホームページ等

<http://cellfunction.riken.jp/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

杉本慶子 (Keiko Sugimoto)

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: 30455349