

令和 6 年 5 月 29 日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K19264

研究課題名（和文）ペプチドホルモンを介した細胞位置関係認識機構

研究課題名（英文）Recognition of Cell Positional Relationships by Peptide Hormones:

研究代表者

柿本 辰男（Kakimoto, Tatsuo）

大阪大学・大学院理学研究科・教授

研究者番号：70214260

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：植物細胞の位置関係の認識には細胞間のシグナル分子が重要な役割を果たす。維管束は複数の種類の細胞からなるが、本研究において構成細胞が位置に応じて分化するためには植物ホルモンやペプチドホルモンが重要であることがわかった。篩部前駆細胞で発現するマスター調節因子である複数のphloem-Dof転写因子が篩部形成のプログラムを開始するとともに側方阻害因子として働くペプチド性シグナル分子CLE25, 26, 45を誘導すること、CLEはphloem-DOFタンパク質を分解することで周辺細胞が篩部になることを抑制していることがわかった。篩部以外から送られる篩部形成抑制シグナルもわかりつつある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

篩部形成のマスター転写因子phloem-DOFの発見と、これが側方阻害因子として働くCLEペプチド性シグナル分子を誘導すること、その受容体も明らかにするとともに、CLEはphloem-DOFを分解することで側方阻害効果を発揮することがわかった。篩部パターン形成の仕組みのロジックを提案できたことは学術上重要であると考えている。

研究成果の概要（英文）：Plant cells differentiate according to their positional relationships, which is necessary for proper pattern formation. We found that plant hormones and peptide hormones are important for constituent cells to differentiate according to their positions. Multiple Phloem-Dof transcription factors, which are master regulators expressed in phloem precursor cells, initiate the program of phloem formation, and induce the peptide signal molecules CLE25, 26, and 45. These CLEs decrease phloem-DOFs thereby preventing surrounding cells from becoming phloem. We also found signals emanated from non-phloem tissues and negatively regulate phloem formation.

研究分野：植物科学

キーワード：phloem 細胞間相互作用 CLE 受容体 転写因子

## 様式 C-19、F-19-1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

植物細胞は、お互いの位置関係に応じて分化し、組織内で適切な細胞パターンを形成する。これを担う細胞間情報伝達分子は比較的近傍の細胞に作用する。このような分子は盛んに研究されて幾つか明らかになった例があった。例えば、私たちが以前に報告した **EPF1** は気孔孔辺細胞前駆細胞が隣接して形成されることがない様になっている。維管束においては、分泌ペプチド **CLE25, 26, 45** は篩部形成を抑制することが知られていたが、多重遺伝子破壊株の解析がなかったために内在の **CLE** の機能は不明であった。また、**CLE** の発現制御機構や **CLE** が篩部形成を抑制する仕組みは分かっていなかった。維管束は木部、師部、前形成層から成る。師部は、栄養分の長距離輸送の中心となる師管と側方に結合している伴細胞からなる。伴細胞は師管構成細胞である篩要素の生存を支えるとともに師管へのショ糖などのローディング、アンローディングの機能を持つ。木部は根から葉への水の輸送機能を担う。前形成層は形成層の元となる幹細胞である。これらが適切な配置で形成される仕組みはあまりわかっていなかった。

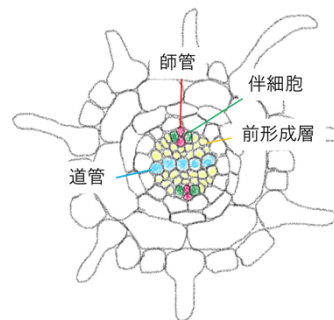


図 1 シロイヌナズナの根の断面図

### 2. 研究の目的

細胞間情報分子の同定、発信制御、受容と作用機構を解明することが目的である。本研究では、維管束と根の表皮を研究対象とした。維管束は木部、篩部、前形成層から構成されている。維管束の篩部発生において必須の転写因子 **APL** が知られていたが、**APL** は篩部形成の初期には発現していない。篩部形成の初期に働くマスター調節因子を見つけること、また、維管束内部の組織のパターンを決定する重要な細胞間シグナル分子を見つけ、その合成の制御、受容機構、作用機構を明らかにすることが目的である。維管束以外にも、根の表皮のパターンにも着目し、皮層細胞との位置関係における細胞分化の仕組みの解明にも挑戦する。

### 3. 研究の方法

篩部形成を支配する転写因子を見出すために、まずは公開されているトランスクリプトームデータを解析し、篩部特異的に発現する転写調節因子を選んだ。これらの遺伝子が、過剰発現あるいは、**SRDX** (転写抑制ドメイン) 融合タンパク質の発現によって篩部形成に影響するかどうかを調べた。遺伝子の発現にはエストロゲン誘導型の系を用いた。その際、篩部前駆細胞で **GFP** を発現する系統 (**S32::GATA20**) と伴細胞で **GFP** を発現する **SUC2::GFP-GUS** を用いた。過剰発現した時に **SUC2::GFP-GUS** を異所的に発現させる **Dof** 転写因子を複数見出したので、これらの機能解析を行った。

### 4. 研究成果

スクリーニングで、*Dof1.1*, *Dof2.2*, *Dof3.6*, *Dof5.3*, *Dof3.2*, *Dof5.6* は過剰発現した時に、伴細胞マーカーである **SUC2 promoter::GFP-GUS** が異所的に発現した。これらの遺伝子に蛍光タンパク質を融合して発現解析を行ったところ、どれもが師部に優先的に発現していた (図 2b)。これら師部に発現していて師部形成を調節している **Dof** を **phloem-Dof** と名付ける。どの **phloem-Dof** 遺伝子でも、全身的に過剰発現すると、本来は篩部にならない細胞が篩部分化の過程で発現する遺伝子が順を追って発現し (図 2c)、最後に篩管形成の最終段階である核の消失も起きた。つまり、**phloem-Dof** を発現させるだけで篩管形成の最終段階まで分化が進むのです。また、**phloem-Dof** の過剰発現は伴細胞も生み出した (図 2a, c の **GFP** は伴細胞マーカーである **SUC2-GFP**)。 **phloem-Dof** は篩部形成に必要な多くの遺伝子の発現だけでなく、篩部形成を抑制する作用がある **CLE25, 26, 45** 分泌ペプチドの発現を活性化することがわかった。これらの **CLE** ペプチド遺伝子を破壊すると篩部の過形成が起る (図 2. e)。 **CLE** は **BAM-CIK** 受容体複合体に受容されるので、 (図 2h)、受容体を破壊しても篩部の過形成が起る。ここでは示さないが、受容体からのシグナルは、**phloem-Dof** タンパク質を不安定化することで篩部形成を阻害することも明らかにした。 **phloem-Dof** は自ら、及び他の **phloem-Dof** 遺伝子を活性化して正のフィードバックを形成し、一方、 **CLE** ペプチドが周辺細胞に働きかけて側方阻害因子として働くという 2 つの作用で適切なパターンで篩部が作られる。

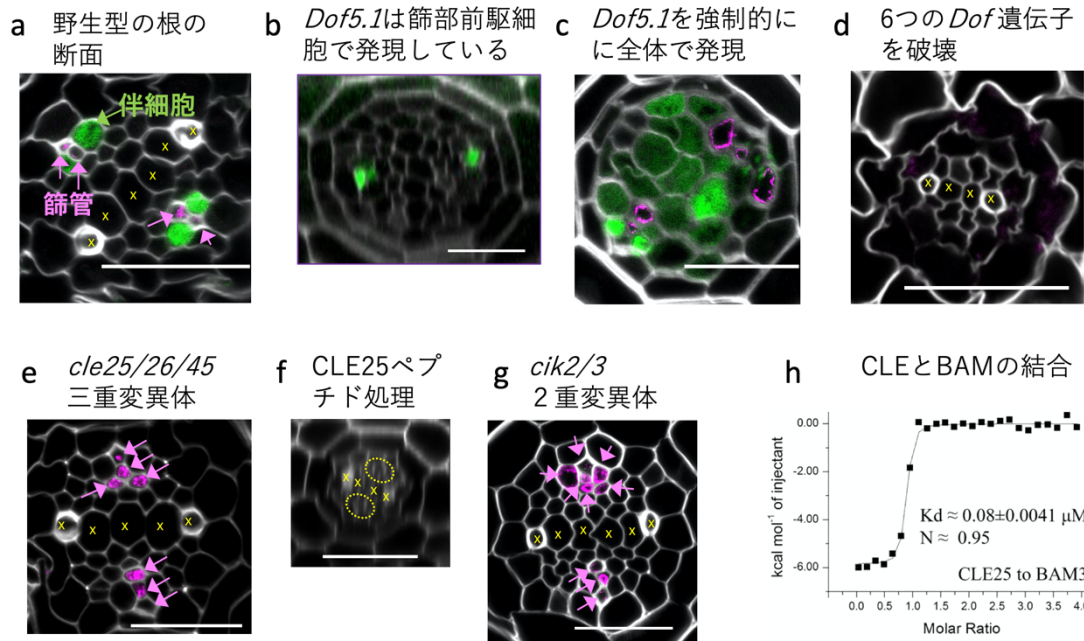


図 2 篩部前駆細胞で発現する Dof 転写因子は篩部形成に必要かつ十分であり、さらに側方阻害因子 CLE25,26,45 を誘導し、BAM-CIK 受容体を介して篩部予定細胞以外が篩部になることを阻害する。a と c では、篩管特異的の遺伝子発現をマゼンタで、伴細胞特異的の遺伝子発現を緑で示している。a, 野生型シロイヌナズナの根の断面図。道管は黄色の x で示している（以降の図も同様）。b, *Dof5.1* プロモーター::GFP の発現。d. phloem-Dof を破壊すると篩部はほとんどなくなる。e-h. phloem-Dof に制御されるペプチド CLE25, 26, 45 は周辺細胞に働きかけ、BAM-CIK 受容体複合体を活性化して篩部形成を抑制する。マゼンタの矢印で篩管を示す。

研究開始当初は、根毛列の制御における位置情報が皮相細胞の隙間を介して提供されるとの仮説を元にした研究も並行して行っていた。その情報を担う候補因子としてのペプチドの研究に関しては、残念ながら十分な再現性が得られなかった。これに関連して、根毛列/非根毛列の制御に関わる未報告の共受容体を見出している。

私たちは、篩部細胞の発生において機能する転写ヒエラルキーの最上位の phloem-Dof 転写因子が篩部形成に必要十分であることを示した。さらに phloem-Dof は、篩部形成を抑える分泌性シグナル分子 CLE をコードする遺伝子をも直接活性化することで周りの細胞が篩部になるのを抑制して維管束の細胞パターンを作り上げることを見出し、その分子機構も明らかにした。側方阻害因子である CLE25, 26, 45 だけでなく、篩部領域以外からも篩部形成を抑制するシグナルがあることがわかってきた。今後はより維管束全体の形成の統合的な理解につなげたい。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Qian P, Song W, Zaizen-Iida M, Kume S, Wang G, Zhang Y, Kinoshita-Tsujimura K, Chai J, Kakimoto T	4. 巻 8
2. 論文標題 A Dof-CLE circuit controls phloem organization.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nature Plants	6. 最初と最後の頁 817-827
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41477-022-01176-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Hasi Q, Kakimoto T	4. 巻 63
2. 論文標題 ROP Interactive Partners are Involved in Control of Cell Division Pattern in Arabidopsis Leaves.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Plant Cell Physiology	6. 最初と最後の頁 1130-1139
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/pcp/pcac089	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Zhang Y, Umeda M, Kakimoto T.	4. 巻 39
2. 論文標題 Pericycle cell division competence underlies various developmental programs.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Plant Biotech	6. 最初と最後の頁 29-36
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.5511/plantbiotechnology.21.1202a	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Zhang Y, Mitsuda N, Yoshizumi T, Horii Y, Oshima Y, Ohme-Takagi, M, Matsui M, Kakimoto, T.	4. 巻 7
2. 論文標題 Two types of bHLH transcription factor determine the competence of the pericycle for lateral root initiation.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Plants	6. 最初と最後の頁 633-643
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41477-021-00919-9	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Zhang Y, Umeda M, Kakimoto T.	4. 巻 39
2. 論文標題 Pericycle cell division competence underlies various developmental programs.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Plant Biotech.	6. 最初と最後の頁 29-35
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5511/plantbiotechnology.21.1202a	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計20件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 Pingping Qian, Tatsuo Kakimoto
2. 発表標題 A Dof-CLE circuit controls phloem organization
3. 学会等名 第86回 日本植物学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 金田紗苗、柿本辰男
2. 発表標題 内鞘細胞の側根形成能を支配するPFA/PFB転写因子の下流遺伝子の解析
3. 学会等名 第86回 日本植物学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山本凜、柿本辰男
2. 発表標題 内鞘細胞の側根形成能を支配するPFA/PFB転写因子の下流遺伝子の解析
3. 学会等名 第11回 近畿植物学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 金田紗苗、柿本辰男
2. 発表標題 側根創始細胞の核の移動におけるオーキシンの役割
3. 学会等名 第11回 近畿植物学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Tatsuo Kakimoto
2. 発表標題 Molecular basis of the competence for lateral root formation
3. 学会等名 29th FAOBMB & the 2022 CSBMB Conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 ハスチムグ、柿本辰男
2. 発表標題 ROP interactive partners (RIPs) regulate microtubule dynamics and orientation of cell division in the leaves
3. 学会等名 第62回日本植物生理学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ye Zhang , Nobutaka Mitsuda , Takeshi Yoshizumi , Yoko Horii , Yoshimi Oshima , Masaru Ohme-Takagi , Minami Matsui , Tatsuo Kakimoto
2. 発表標題 PFAs and PFBs, two types of bHLH proteins, determine the competence of pericycle for lateral root initiation
3. 学会等名 Secrets of stem cells underlying longevity and persistent growth in plants
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 柿本辰男
2. 発表標題 転写因子-ペプチド-受容体-転写因子フィードバックループによる篩部パターン形成の仕組み
3. 学会等名 近畿植物学会 第 10 回 講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 金田紗苗、柿本辰男
2. 発表標題 側根原基形成における局所的なオーキシン生合成の役割
3. 学会等名 近畿植物学会 第 10 回 講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山本凜、柿本辰男
2. 発表標題 シロイヌナズナの側根形成初期に発現する GATA23 遺伝子の破壊株の解析
3. 学会等名 近畿植物学会 第 10 回 講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 金田紗苗、柿本辰男
2. 発表標題 側根原基形成における局所的なオーキシン生合成の役割
3. 学会等名 第63回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 金田紗苗, 柿本辰男
2. 発表標題 側根創始細胞の核の移動におけるオーキシン生合成の役割
3. 学会等名 第64回植物生理学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 金田紗苗, 柿本辰男
2. 発表標題 オーキシンによる側根創始細胞の極性形成と内鞘細胞分裂箇所の限定化の仕組み
3. 学会等名 第65回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Pingping Qian, Haruka Taito, Tatsuo Kakimoto.
2. 発表標題 DOF-CLE signaling circuit in root vascular patterning.
3. 学会等名 第65回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 金田紗苗, 柿本辰男
2. 発表標題 側根創始細胞の極性形成におけるオーキシンの役割
3. 学会等名 近畿植物学会第12回講演会
4. 発表年 2023年



1. 発表者名 帯刀晴加、Pingping Qian、柿本辰男
2. 発表標題 CLE ペプチドによる シロイヌナズナの 篩部パターン形成の仕組み
3. 学会等名 近畿植物学会第12回講演会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Kaneta, S., Kakimoto, T.
2. 発表標題 The Role of Auxin Biosynthesis in Directional Nuclear Migration in Lateral Root Founder Cells.
3. 学会等名 TJPB (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 金田紗苗、柿本辰男
2. 発表標題 側根創始細胞の非対称性形成におけるオーキシンの役割
3. 学会等名 第64回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Sanae Kaneta, Tatsuo Kakimoto
2. 発表標題 Auxin biosynthesis inhibitors impair auxin-induced directional nuclear migration in lateral root founder cells in <i>Arabidopsis thaliana</i> .
3. 学会等名 The 33rd International Conference on Arabidopsis Research. (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Qian, Pingping; Kakimoto, Tatsuo
2. 発表標題 CLE-BAM/CIK signaling in root vascular patterning,
3. 学会等名 The 33rd International Conference on Arabidopsis Research. (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

Kakimoto Lab <a href="https://kakimoto0.wixsite.com/kakimoto-lab">https://kakimoto0.wixsite.com/kakimoto-lab</a>
---

6. 研究組織		
氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------