

令和 5 年 6 月 5 日現在

機関番号：32702

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2021～2022

課題番号：21K20662

研究課題名（和文）植物形態発生の背後に潜む内生機械ストレスに応答する分子機構の発掘

研究課題名（英文）Molecular mechanism underlying stem development response to internal and external mechanical stimuli

研究代表者

浅岡 真理子（Asaoka, Mariko）

神奈川大学・理学部・助教

研究者番号：80909888

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,000,000円

研究成果の概要（和文）：多くの植物の茎は筒状の構造を持ち、重力に逆らって直立し、花を付け果実を实らせる。茎器官が外部や内部からの力学的な刺激に対してどのように応答しているのか、本研究では茎の各細胞における遺伝子発現の解明を目指し、その解析基盤を構築した。また、茎はどのようにして一体となった構造を維持するのか、維管束の数や配置などが、力学的最適化を達成する重要な要素であることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

植物はまるで「生きた建築物」であり、茎はその大黒柱といえる。その茎の成長を制御する遺伝子群や、茎を構成する細胞の形作りの様式はようやく解析され始めたばかりである。本研究成果は、草本植物の茎の形態形成過程の全貌の一端を解き明かしたものであり、本研究における研究成果は、建築分野における応用的な研究にもつながりうる。

研究成果の概要（英文）：The stems of herbage plants have a cylindrical structure and stand upright against gravity, producing flowers and fruits. Towards understanding how stem organ responds to mechanical signals from outside and inside of organ, this research was performed to establish the basis of analysis for tissue-specific gene expression within the stem. In addition, we revealed that the number and arrangement of vascular bundles is a key factor for maintenance of mechanical integrity of stem.

研究分野：植物分子形態学

キーワード：茎 シロイヌナズナ 形態形成 力学的最適化 遺伝子発現

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

多くの草木の茎や幹が、円柱状に形を整え強度を維持しながら成長する姿は、ごく当たり前のこととして捉えられているが、その過程における発生と分化、成長の緻密な機構はあまり知られていない。植物細胞は細胞壁で互いに結合しているため、各細胞が成長する際には相当の力の発生と、組織・器官における力学的配置に変化が起こる。一方で、植物細胞壁は細胞内の膨圧によって、たとえ細胞成長が止まっている状態でも常に機械刺激にさらされている。即ち植物の成長と機械刺激の発生は表裏一体であり、近年この細胞成長と機械刺激の受容・伝達のフィードバック機構が植物の形態形成に重要な役割を果たすことが示されてきている。植物の茎や胚軸では、表皮がタガとなって内部組織の成長を抑制することで器官全体の機械的な整合性が保たれていることが古くは人工的な操作を用いた実験により提唱され、近年モデル植物シロイヌナズナの変異体を用いた実験系でも実証された(Asaoka et al., 2021<sup>1)</sup>)。つまり、茎の表皮組織と内部の組織では、その組織の機械的実体というものは同一ではないことが予想され、形態学的にも表皮細胞は内部組織よりも厚い細胞壁を持つ点で異なる。このような形態的、機械的の違いがどのような遺伝子発現に影響しているのか、すなわちどのような制御機構が茎の形態発生の根底にあるかは大きな謎であった。



図 1. 茎の外見の実体顕微鏡写真。B-H は *pNST3:IDD9:SRDX* 系統(亀裂系統)の様々な植物体の茎における亀裂の様子写真。スケールバーは 5 mm (A)、10 mm (B-H)。Asaoka et al. 2023 より抜粋。

### 2. 研究の目的

本研究では、機械的ストレスの程度が異なることが予想される茎の組織毎に網羅的な遺伝子発現解析を行なうことで、茎の形態形成と機械的整合性維持機構の制御を司る遺伝子発現基盤を明らかにすることを目的とする。並行して、茎の内部組織の微細構造の解析等をすすめて、本研究課題の前提となる機械刺激と形態の関連をより明確にすることも取り組んだ。

### 3. 研究の方法

本研究では、機械的に異なる組織における遺伝子発現実態を明らかにするために、茎の組織毎(主に表皮、内皮、篩部、繊維組織)のトランスクリプトーム解析に着手する。そしてその結果に基づき、茎に亀裂が生じる系統の表皮組織で特に発現変動がみられる遺伝子(群)の候補を挙げる。そして、野生型及び亀裂系統でそれらの遺伝子の茎発生に伴う発現量変化を測定し、機械ストレス状態の指標となる遺伝子を明らかにする。

具体的な方法としては、各組織に特異的に発現する遺伝子のプロモーター制御下で H4-GFP を発現する系統を作製し、GFP 蛍光を指標とした核ソーティングによって細胞分画を行い、それから作製した RNA ライブラリに関して RNA-seq を行なう。この手法はシロイヌナズナの茎においても確立されている(Shi et al., 2020<sup>2)</sup>)。

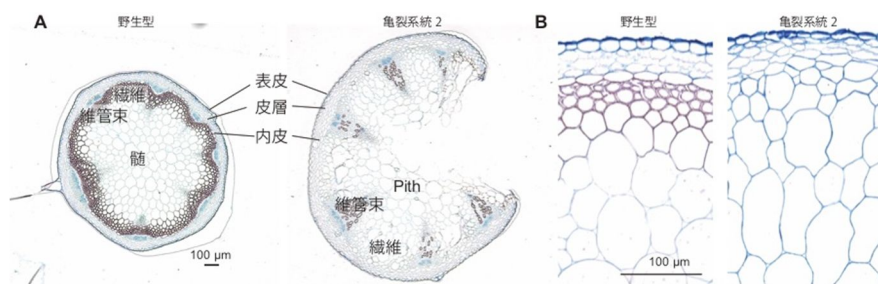


図 2. 茎の横断切片の写真。A, B 共に(左)野生型(右)亀裂系統。Asaoka et al. 2023 より抜粋し改変した。野生型と比較して亀裂系統 2 では表皮細胞は扁平な形態を示した。

## 4. 研究成果

(1). 分与していただいた H4-GFP 系統と、亀裂系統の掛け合わせを行なった。薬剤による選抜と蛍光観察による選抜を組み合わせることで選抜をすすめ、本研究で予定していた数十のシロイヌナズナの新規形質転換系統の作製は完了した。形質転換系統作製の際には頻出の問題であるが、導入遺伝子発現のサイレンシングや導入遺伝子同士がゲノム上で近傍に位置することによる選抜の複雑化といった問題も生じたため、計画から追加して系統の作成を継続している。一部の系統に関しては目的のデータの取得が完了しているが、目標としていた全てのデータの取得、解析には至っていない。

(2). 茎に亀裂が生じる系統の詳細な形態解析  
 遺伝子発現解析用の系統の作成と並行して、茎に亀裂が生じる系統の形態解析自体もすすめた。組織切片を作成したところ、茎に亀裂が生じる系統では、茎内部の繊維細胞が異常に肥大していることが判明した。一方で、表皮細胞は、茎の内部の成長に圧迫されるかのように、細長い形状となっていることが判明した。また、茎に亀裂が生じる系統と、維管束数が増加する変異体との交配系統を作成したところ、亀裂の生じる様子に変化がみられることが分かった。これらのことから、茎器官の力学的な整合性の維持には、維管束の数や配置が重要であり、茎を構成する多様な細胞、組織間で調和の取れた形態形成が重要であることを見出した。これらは、植物のバイオメカニクス分野における重要な研究成果であると評価を受け、国際会議 Plant Biomechanics Conference (2022年8月、Lyon) にて口頭発表に選出され発表するとともに、国際雑誌に論文として発表した (Asaoka et al., 2023) 応用的には、丈夫で、且つ機能的な構造物を作るための手がかりとなることが期待される。

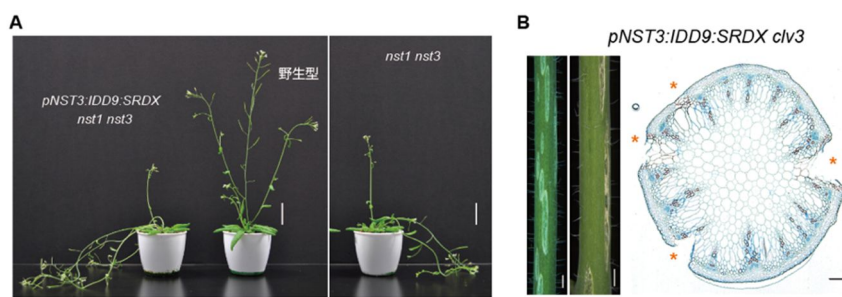


図 3. (A) 播種後 1 ヶ月間の植物体の写真。白い矢尻は亀裂を示す。スケール: 30 mm。 (B) *pNST3:IDD9:SRDX clv3* 系統の茎の亀裂と、横断切片の顕微鏡画像。スケール: 1 mm (左、中央)、100 μm (右)。切片画像におけるアスタリスクは亀裂を示している。

(3). 植物界の器官損傷の普遍性について  
 植物の組織や細胞を対象とした力学的特徴の測定手法は、近年発展が目覚ましい。その手法は、これまでに亀裂系統に関する研究でも取り入れてきており (Asaoka et al., 2021) それらについて総説としてまとめて発表した (Asaoka and Ferjani, 2023)。円柱状の茎だけでなく、植物界を見渡すと球状である果実でも亀裂が生じることがよく知られている。これらの器官にみられる器官損傷の普遍性についても、主に形態学知見、遺伝学的知見にもとづいて議論している。

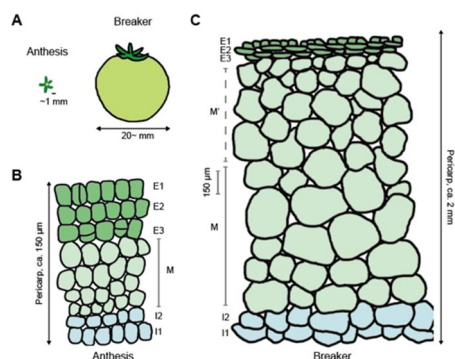


図 4. (A) トマト Wva106 の果実の成長の概要。開花時 anthesis。ブレイカーステージ breaker は果実の色が緑から赤に変わりはじめる成長段階。(B、C) トマトの果皮 (pericarp) の細胞層とその発生過程。(B) 開花時、(C) ブレイカーステージ。この図は受粉後 36 日の切片画像を参考にしている。E1 outer epidermis; E2 または E3, sub-epidermal; I2, inner sub-epidermal; M, mesocarp; M', 開花後、主に E2, E3 層から新たに形成される細胞層。一部、I2 層にも由来する。図は Asaoka and Ferjani (2023) からの抜粋で、Ireland et al. (2013), Lakso and Goffnet (2013), Renaudin et al. (2017) を参考に作成している。

## 参照

- \*1 Asaoka, M., Ooe, M., Gunji, S., Milani, P., Runel, G., Horiguchi, G., Hamant, O., Sawa, S., Tsukaya, H., and Ferjani, A. (2021) Stem integrity in *Arabidopsis thaliana* requires a load-bearing epidermis. *Development* 148: dev198028.
- \*2 Shi, D., Jouannet, V., Agustí, J., Kaul, V., Levitsky, V., Sanchez, P., Mironova, V.V., Greb, T. (2021) Tissue-specific transcriptome profiling of the *Arabidopsis* inflorescence stem reveals local cellular signatures. *The Plant Cell*. 33: 200-223.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Mariko Asaoka, Shingo Sakamoto, Shizuka Gunji, Nobutaka Mitsuda, Hirokazu Tsukaya, Shinichiro Sawa, Olivier Hamant, Ali Ferjani	4. 巻 150
2. 論文標題 Contribution of vasculature to stem integrity in Arabidopsis thaliana.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Development (Cambridge, England)	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1242/dev.201156	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Mariko Asaoka, Ali Ferjani	4. 巻 35
2. 論文標題 Mechanical conflicts emerging at the cylindrical and spherical plant organs.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Plant Morphology	6. 最初と最後の頁 49-57
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Akitoshi Iwamoto, Mariko Asaoka	4. 巻 35
2. 論文標題 JPR international symposium "Mechanical forces in plant growth and development" (Joint symposium with the Japanese Society of Plant Morphology)	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Plant Morphology	6. 最初と最後の頁 41-42
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Toshiya Yokoyama, Akira Watanabe, Mariko Asaoka, Kazuhiko Nishitani	4. 巻 46
2. 論文標題 Germinating seedlings and mature shoots of Cuscuta campestris respond differently to light stimuli during parasitism but not during circumnutation	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Plant Cell and Environment	6. 最初と最後の頁 1774-1784
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/pce.14575	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Shizuka Gunji, Kensuke Kawade, Hiromitsu Tabeta, Gorou Horiguchi, Akira Oikawa, Mariko Asaoka, Masami Yokota Hirai, Hirokazu Tsukaya, Ali Ferjani	4. 巻 13
2. 論文標題 Tissue-targeted inorganic pyrophosphate hydrolysis in a fugu5 mutant reveals that excess inorganic pyrophosphate triggers developmental defects in a cell-autonomous manner	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Plant Science	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fpls.2022.945225	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計3件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 Momoko Tobinai, Mariko Asaoka, Toshiya Yokoyama, Kazuhiko Nishitani
2. 発表標題 "根無し"カズラの根の退化過程に着目した形態的解析
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 Mariko Asaoka, Simone Bovio, Shizuka Gunji, Hiromitsu Tabeta, Olivier Hamant, Ali Ferjani
2. 発表標題 Excess growth combined with reduced cell wall stiffness in Arabidopsis triggers flowering stem breakage
3. 学会等名 Plant Biomechanics meeting 2022(国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Mariko Asaoka, Ali Ferjani
2. 発表標題 Mechanical feedback in the cylindrical shape maintenance of flowering stems
3. 学会等名 日本植物学会第86回大会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
---------	---------