

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月31日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2011

課題番号：22770051

研究課題名（和文） 新規転写因子GTL1による植物の細胞サイズ制御

研究課題名（英文） Control of plant cell size by a novel transcription factor GTL1

研究代表者

Breuer Christian (BREUER CHRISTIAN)

独立行政法人理化学研究所・細胞機能研究ユニット・特別研究員

研究者番号：90525859

研究成果の概要（和文）：

高等植物の器官、組織を構成する多くの細胞は、発生過程で数回の分裂を繰り返した後、伸長生長を開始する。それぞれの植物細胞は通常特徴的な大きさに達した後伸長生長を終了させるが、細胞の最終的な大きさが決定される分子機構は未だ解明されていない。本研究では代表者らが最近単離したトライヘリックス型転写因子 GT2-LIKE 1 (GTL1)及びそのホモログDF1、GT2 の機能解析を行い、植物には細胞伸長を積極的に停止させるメカニズムが存在することを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

During plant organ growth, cells transit from the proliferative phase to the differentiation phase. During cell differentiation, cells cease their growth when they reach their maximum size but the mechanism that determine the final cell size is not known. In this study I investigated the function of plant-specific trihelix transcription factors GTL, DF1 and GT2 in regulating plant cell size. My data demonstrate that plants actively terminate cell growth by upregulating the expression of these transcription factors.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2011年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・植物分子生物・生理学

キーワード：細胞サイズ、細胞伸長、転写因子、核内倍加、トライヘリックス、シロイヌナズナ

## 1. 研究開始当初の背景

植物細胞は通常成長の過程で数倍から数十倍にまで拡大するが、葉や花の分泌細胞などの特殊な細胞の中には数百倍から数千倍にまで達するものもある。植物細胞の伸長成長は、液胞への吸水と、細胞をとりまく細胞壁の進展による細胞の容積増大によって引き起こされる。また多くの植物細胞は核内倍加周期 (endoreduplication) と呼ばれる、細胞分裂を伴わないで染色体複製が繰り返される細胞周期を経て細胞内の DNA 量 (核相, ploidy) を上昇させるが、こうした核相の上昇と細胞伸長の間にはしばしば正の相関関係がみられることが知られている。植物細胞が最終的に到達する大きさは植物種や細胞種によってほぼ一定であるため、植物種固有の遺伝情報によって細胞生長を規定するしくみが存在することが予想されている。植物細胞の伸長生長がどのようにして終了し、細胞の最終的な大きさがいかに決定されるかという課題は、基礎・応用研究の両面において重要であるが、これらの過程を司る分子機構の全貌は解明されていなかった。

## 2. 研究の目的

本研究では研究代表者が最近同定した細胞特異的なトライヘリックス型転写因子 GT2-LIKE 1 (GTL1) の機能解析を通して、高等植物における細胞サイズの分子制御ネットワークを明らかにすることを目的とした。GTL1の機能を欠損した *gt11* 変異体のトライコームでは核内倍加が野生型レベルを超えて進行し、細胞が最終的に野生型よりも2倍以上大きく伸長する。またGTL1はトライコーム細胞が最終的な大きさに達する時期に発現することから、細胞生長を積極的に抑制する因子として機能することが示唆されていた。そこで本研究ではさらにGTL1の機能解析を進め、植物の細胞サイズを遺伝子の発現調節によって抑制する分子機構の解明を目指した。またGTL1と高い相同性をもつホモログDF1, GT2についても機能解析を進め、3つの転写因子が協調的に機能するかどうかを検証した。

## 3. 研究の方法

*GTL1* の遺伝子発現を空間的・時間的に制御するシス配列を決定するために、*GTL1* プロモーターの deletion analysis を行った。研究代表者がこれまで解析に用いてきた2kbのプロモーター領域を段階的に短縮し、GUSマーカーや *GTL1::GFP* に連結するコンストラクトを作成して、シロイナズナの野生型もしくは *gt11* 変異体に導入した。

さらにGTL1に依存して転写量が変化する下流標的遺伝子を同定するため、DEX誘導性の *pGTL1::GTL1::GR* コンストラクトを *gt11* 欠損変異体に導入し、DEX依存的に *gt11* の表現型を相補する形質転換体を選抜した。次にこれらの植物体にDEX処理してからRNAを抽出し、Affymetrix社のマイクロアレイを用いて遺伝子発現の比較解析を行った。

またGTL1はトライコーム以外の細胞でも細胞生長が終了する時期に発現しているため、これらの細胞においてもトライコームと同様の機能をもつことが予測されていた。そこでこの可能性を検証するために、細胞特異的に遺伝子発現を誘導することが知られるプロモーターにGTL1:GFPを連結したコンストラクトを作成し、形質転換体を作成した。

## 4. 研究成果

上記の *GTL1* プロモーター deletion series 形質転換体を用いて、トライコーム形成の最終段階での *GTL1* 遺伝子の発現を規定するシス配列、また *gt11* 変異体の表現型を相補するために必要なシス配列を同定した。

GTL1 の下流標的遺伝子を探索するためのマイクロアレイ解析からは GTL1 に依存して発現量の変動する遺伝子を抽出し、なかでもトライコーム細胞において発現量の変化する核内倍加関連因子について機能解析を進めた。これらの因子については GTL1 が直接そのプロモーター配列に結合すること、またGTL1の下流で作用することを見出した。

トライコーム細胞以外の細胞での GTL1 発現系に関しては、これまでのところ GL2 プロモーター (根毛非形成細胞およびトライコーム特異的)、EXP7 プロモーター (根毛非形成細胞特異的)、ATML1 プロモーター (茎頂メリ

ステムのL1層特異的)を用いてGTL1:GFPを細胞特異的に発現させることに成功し、これらの形質転換体ではGTL1:GFPが発現している細胞特異的に生長が抑制されることを見出した。またDF1、GT2についても同様の細胞特異的な過剰発現体を作成し、これらの遺伝子が発現する細胞では生長が著しく抑制されることを見出した。これらの細胞では核相も低下していることから、トライコーム以外の細胞においてもトライヘリックス転写因子が核相依存的な細胞伸長を制御することが分かった。

#### 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 2 件)

① 石田喬志, クリスチャンブラウワー, 杉本慶子 核内倍加と細胞成長を規定する発生活性制御 化学と生物 Vol. 49 No. 07 (2011) 査読無

② Christian Breuer, Takashi Ishida, Keiko Sugimoto. Developmental control of endocycles in plants. Curr Opin in Plant Biol 13: 654-660 (2010) 査読有

[学会発表] (計 5 件)

① クリスチャンブラウワー、河村彩子、杉本慶子 Transcriptional regulation of cell growth in Arabidopsis 第53回日本植物生理学会年会 (京都市、2012年3月16日)

② Christian Breuer. Transcriptional regulation of ploidy-dependent cell growth in Arabidopsis. Duke Plant Biology Forum, Duke University, Durham (USA, Jan 13, 2012)

③ Christian Breuer. Transcriptional control of plant cell growth.

International Symposium "Strategies of Plants against Global Environmental Change" (倉敷市 2011年12月10日)

④ Christian Breuer, Ayako Kawamura, and Keiko Sugimoto. Transcriptional regulation of cell growth in Arabidopsis", International Conference on Arabidopsis Research, University of Wisconsin, Madison, (USA, June 22, 2011)

⑤ クリスチャンブラウワー、河村彩子、杉本慶子 The trihelix transcription factor GTL1 regulates ploidy-dependent cell growth in Arabidopsis trichome. 第52回日本植物生理学会年会 (仙台市、2011年3月)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

[その他]

ホームページ等

<http://labs.psc.riken.jp/cfru/Research.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

Breuer Christian (BREUER CHRISTIAN)

独立行政法人理化学研究所・細胞機能研究ユニット・特別研究員

研究者番号：90525859