

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 28 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24570050

研究課題名(和文) 内皮 節部間コミュニケーションを介した全く新しい花序形態制御機構の解析

研究課題名(英文) Analysis of novel regulatory mechanisms for plant stem growth

研究代表者

打田 直行(Uchida, Naoyuki)

名古屋大学・トランスフォーマティブ生命分子研究所・特任准教授

研究者番号：40467692

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、野生型に比べて茎が短い*er*変異体と*epfl4 epfl6*二重変異体を活用して、茎の成長で働く新因子の発見を目指した。まず、野生型、*er*変異体、*epfl4 epfl6*二重変異体の茎を詳細に観察し、両変異体では茎の先端に近い部分で早期に細胞増殖が停止することを見出した。次に野生型と両変異体のこの部位での網羅的遺伝子発現解析により、両変異体で発現が減少する新たな受容体遺伝子を見出した。ゲノムにはこの新受容体遺伝子の類似遺伝子も存在したので、これらの二重変異体を作成したところ、茎の成長が著しく阻害された。すなわち、本研究で目指した、茎の成長に関わる新因子の同定が達成できた。

研究成果の概要(英文)：In this project, we aimed to identify novel genes that regulate stem growth of plants. To that purpose, we used *er* mutant and *epfl4 epfl6* mutant. By comparing wild type, *er* and *epfl4 epfl6* plants, it was revealed that cell proliferation decreases around the tip of stems in mutants compared with wild type. Then by performing comprehensive gene expression analysis, we identified a novel receptor gene whose expression level is down-regulated in mutants. Because there is a similar gene to the identified gene, we made the double mutant for these two genes. The double mutant showed defects in stem growth, indicating that these receptor genes play an important role in the regulation of stem growth. Thus, we achieved the goal of this project, that is, identification of novel genes that regulate stem growth.

研究分野：植物発生遺伝学

キーワード：受容体 リガンド シロイヌナズナ

1. 研究開始当初の背景

高等植物の発生では、体を構成する細胞間での情報のやりとりが必須だが、解明されてきた分子機構の例は限られており、新たなメカニズムの解明は重要課題である。そのような中、研究代表者が以前から解析に用いてきた *erecta* (*er*) 変異体は、野生型に比べて茎が短い。その原因遺伝子 *ER* 遺伝子は細胞膜結合型の受容体をコードする。したがって、茎の成長制御において *ER* に作用するリガンドの存在が想定されてきた。そのリガンドの探索を行ったところ、*EPFL4* と *EPFL6* の機能冗長的に働く二つのリガンド遺伝子を同定した。そして、*EPFL4* と *EPFL6* は茎の内皮で生まれるリガンド因子であり、このリガンドが篩部で *ER* により受容されることが茎の成長において大きな役割を持つことを明らかとしてきた。しかし、この *EPFL4/6-ER* 経路の下流でどのような因子が働いて茎の成長が調節されているのかは不明であった。

2. 研究の目的

本研究では、上記の *EPFL4/6-ER* 経路の下流で機能する因子群を探索し、その中から茎の成長に関わる新しい因子の発見を目指すことを目的とした。

3. 研究の方法

(1) *er* 変異体と *epfl4 epfl6* 二重変異体は野生型と比べて茎の成長に異常が生じ、野生型に比べて茎が短い。そこで、まず、茎の中のどの領域がこの *EPFL4/6-ER* 経路の制御の影響を最も受ける現場なのかを明らかにするために、野生型、*er* 変異体、*epfl4 epfl6* 二重変異体の茎の細胞の分裂活性を茎の先端から連続的に観察して、解析対象となる部位を特定する。

(2) 次に、そうして特定した部位に関して、野生型、*er* 変異体、*epfl4 epfl6* 二重変異体での網羅的遺伝子発現解析を行い、発現が変動する遺伝子群を同定し、それらの中から興味深い着目すべき遺伝子を抽出する。

(3) 着目した遺伝子の変異体が実際に茎の成長に異常を持つかどうかを解析することで、こうして見出した遺伝子が茎の成長制御に関わる新しい因子であるかどうかを確かめる。

4. 研究成果

(1) まず、野生型、*er* 変異体、*epfl4 epfl6* 二重変異体の茎の細胞の分裂活性を茎の先端から連続的に観察したところ、両変異体では野生型とくらべて、茎の先端に近い部分で早期に細胞増殖が停止することを見出した。

(2) 上の結果を受け、野生型、*er* 変異体、*epfl4 epfl6* 二重変異体でのその該当部位をサンプルとして用いた網羅的遺伝子発現解析を行ったところ、変異体で発現が減少する遺伝子群の中に興味深い新たな受容体遺伝子が含まれていることを見出した。

(3) この新規受容体遺伝子に着目することとし、その変異体ラインを確立して茎の成長を解析したが、茎の成長には異常は生じていなかった。しかし、ゲノム情報を調べたところ、この新受容体遺伝子の類似遺伝子がゲノムには存在することが判明したので、これら二つの遺伝子が同じ機能を発揮している可能性を考えた。そこで、これらの二重変異体を作成して観察したところ、茎の成長が著しく阻害されていることが明らかとなった。すなわち、本研究での目的である、茎の成長制御に関わる新しい因子の同定、が達成できたと考えている。

(4) そもそも、この研究の始まりは、篩部で *ER* 経路が活性化することが茎の成長に重要である、という発見に基づいている。そこで、今回発見した新規受容体遺伝子の発現パターンを解析したところ、この遺伝子は篩部で発現していることが明らかとなった。このことは、茎の成長制御においては、篩部で受容体を介したシグナル伝達経路が複数働くことが重要であることを示しており、これまでの想定にはないような新しい仕組みの発見につながる起点となる成果である。

(5) 今後はこの新しい受容体の下流で働くシグナル経路の解析に加えて、この受容体に作用するリガンドの探索を進めることで、この新受容体シグナル経路の全容の解明を目指すとともに、この経路と既存の *EPFL4/6-ER* 経路の関係性の解明も行うことで、茎の成長に関わるメカニズムの全体像に迫る研究を進めていく予定である。

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8件)

(1) Aguilar-Martinez JA, Uchida N, Townsley B, West DA, Yanez A, Lynn N, Kimura S, Sinha N (2015) Transcriptional, post-transcriptional and post-translational regulation of STM gene expression in Arabidopsis determine gene function in the shoot apex. *Plant Physiol.*, 167, 424-442.

DOI: 10.1104/pp.114.248625

(2) Uchida N, Sakamoto T, Tasaka M, Kurata T. (2014) Identification of EMS-induced Causal Mutations in Arabidopsis thaliana by Next-Generation Sequencing. *Methods Mol. Biol.*, 1062, 259-270.

DOI: 10.1007/978-1-62703-580-4_14

(3) 打田 直行 (2013) 植物が茎を伸ばす仕組みで働くスイッチの発見 ～植物の背丈を人為的に操る技術につながるか?～, *化学と生物*, 51, 588-589.

(4) 打田 直行 (2013) 花序の形態の制御で働く EPFL 型ペプチドホルモンとその受容体, 植物の生長調節, 48, 67-72.

(5) Uchida N, Tasaka M. (2013) Regulation of plant vascular stem cells by endodermis-derived EPFL-family peptide hormones and phloem-expressed ERECTA-family receptor kinases, *J. Exp. Bot.*, 64, 5335-5343.
DOI: 10.1093/jxb/ert196

(6) Uchida N, Shimada M, Tasaka M. (2013) ERECTA-family receptor kinases regulate stem cell homeostasis via buffering its cytokinin responsiveness in the shoot apical meristem. *Plant Cell Physiol.*, 54, 343-351.
DOI: 10.1093/pcp/pcs109

(7) Osawa M, Hosoda N, Nakanishi T, Uchida N, Kimura T, Imai S, Machiyama A, Katada T, Hoshino S, Shimada I (2012) Biological role of the two overlapping poly(A)-binding protein interacting motifs 2 (PAM2) of eukaryotic releasing factor eRF3 in mRNA decay. *RNA*, 18, 1957-1967.
DOI: 10.1261/rna.035311.112

(8) Uchida N, Lee JS, Horst RJ, Lai HH, Kajita R, Kakimoto T, Tasaka M, Torii KU. (2012) Regulation of inflorescence architecture by intertissue layer ligand-receptor communication between endodermis and phloem. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 109, 6337-6342.
DOI: 10.1073/pnas.1117537109

[学会発表](計 26 件)

(1) 森明子, 小川与比古, 猪狩和成, 森田(寺尾)美代, 田坂昌生, 打田直行 (2015) “Analysis of de novo SNP spectrum in uni-1D mutant” 日本植物生理学会年会第 56 回大会, 東京, 3月 16 日

(2) 池松朱夏, 田坂昌生, 鳥居啓子, 打田直行 (2015) “ERECTA-family receptor kinases regulate secondary growth in hypocotyls of *Arabidopsis thaliana*” 日本植物生理学会年会第 56 回大会, 東京, 3月 17 日

(3) 木村友香, 鳥居啓子, 田坂昌生, 打田直行 (2015) “ERECTA-family receptors alter WUSCHEL-dependency and cytokinin responsiveness in stem cell maintenance” 日本植物生理学会年会第 56 回大会, 東京, 3月 17 日

(4) 平川有宇樹, 田畑亮, 河内孝之, 打田直行, 澤進一郎, John Bowman (2015) “Analysis of CLE peptide genes in *Marchantia*” 日本植物生理学会年会第 56 回大会, 東京, 3月 17 日

(5) Hirakawa Y, Tabata R, Ishizaki K, Kohchi T, Uchida N, Bowman J, Sawa S. (2014) “Role of CLE peptide signaling in *Marchantia* development” *Marchantia Workshop 2014*, 神戸, 12月 9 日

(6) Uchida N, Kimura Y, Torii KU, Tasaka M. (2014) “Regulation of plant stem cell homeostasis via coordination among multiple signaling pathways.” The 38th Naito Conference on Molecule-based biological systems, 札幌, 10月 7 日

(7) 爲重 才覚, 岡本 智史, Lee Jin Suk, 相田 光宏, 田坂 昌生, Torii Keiko, 打田直行 (2014) “ERECTA ファミリー受容体とペプチドリガンドによるオーキシン応答パターンの制御” 日本植物学会大 78 回大会, 神奈川, 9月 12 日

(8) 平川 有宇樹, Bowman John, 打田直行 (2014) “陸上植物における CLE 遺伝子の機能解析” 日本植物学会大 78 回大会 神奈川, 9月 12 日

(9) Uchida N (2014) “Regulation of plant growth and morphogenesis by receptor signaling”, The 2nd International Symposium on Transformative Bio-Molecules, 名古屋, 5月 12 日

(10) Ikematsu S, Notaguchi M, Higashiyama T, Tasaka M, Torii K, Uchida N (2014) “Plant receptors regulating cell proliferation and differentiation in woody tissues”, The 2nd International Symposium on Transformative Bio-Molecules 2014, 名古屋, 5月 12 日

(11) 木村友香, 池松朱夏, 松原健太, 爲重才覚, 平川有宇樹, 田坂昌生, 鳥居啓子, 打田直行 (2014) “ERECTA 受容体ファミリーがコーディネートする発生・成長シグナリング” 日本植物学会第 78 回大会, 神奈川, 9月 12 日

(12) 打田直行, 小川与比古, 森明子, 猪狩和成, 森田(寺尾)美代, 田坂昌生 (2014) “Mechanisms for diversification of R genes revealed by analysis of uni-1D mutant” 日本植物生理学会年会第 55 回大会, 富山, 3月 18 日

(13) 野中菜乃美, 池松朱夏, 田坂昌生, 打

田 直 行 (2014) “ Regulation of inflorescence stem growth by the pair of peptide hormones EPFL4/6 and their receptor ERECTA ” 日本植物生理学会年会第 55 回大会, 富山, 3 月 18 日

(14) 池松朱夏, 野田口理孝, 東山哲也, 鳥居啓子, 田坂昌生, 打田直行 (2014) “ Regulation of vascular development of Arabidopsis hypocotyls by ERECTA-family receptor kinases during secondary growth ” 日本植物生理学会年会第 55 回大会, 富山, 3 月 18 日

(15) 松原健太, 池松朱夏, 平川有宇樹, 東山哲也, 鳥居啓子, 田坂昌生, 打田直行 (2014) “ Analysis of signaling crosstalks for vascular growth in Arabidopsis hypocotyls. ” 日本植物生理学会年会第 55 回大会, 富山, 3 月 18 日

(16) 木村友香, 田坂昌生, 打田直行 (2014) “ Novel mechanism for stem cell maintenance suggested by analysis of ERECTA-family receptor kinase genes ” 日本植物生理学会年会第 55 回大会, 富山, 3 月 18 日

(17) 平川有宇樹, 田畑亮, 本田紘章、打田直行, 河内孝之, 澤進一郎, John Bowman (2014) “ Functional analysis of a Marchantia CLE gene ” 日本植物生理学会年会第 55 回大会, 富山, 3 月 18 日

(18) 打田直行, 田坂昌生 (2013) “ Regulation of plant vascular stem cells by ERECTA-family receptor kinases ” 日本植物生理学会年会第 54 回大会, 岡山, 3 月 21 日

(19) 木村友香, 島田昌典, 田坂昌生, 打田直行 (2013) “ Regulation of stem cell homeostasis by ERECTA-family receptor kinases. ” 日本植物生理学会年会第 54 回大会, 岡山, 3 月 21 日

(20) 岡本智史, 相田 光宏, 田坂昌生, 打田直行 (2013) “ Novel ligand-receptor pair for leaf tooth formation ” 日本植物生理学会年会第 54 回大会, 岡山, 3 月 21 日

(21) 池松朱夏, 田坂昌生, 打田直行 (2013) “ Regulation of hypocotyl vasculatures by ERECTA-family receptor kinases during secondary growth. ” 日本植物生理学会年会第 54 回大会, 岡山, 3 月 21 日

(22) Uchida N (2013) “ Regulation of plant vascular stem cells by ERECTA-family

receptor kinases ” The 1st European Workshop on Peptide Signalling in Plants, Oslo, Norway, 1 月 17 日

(23) Uchida N (2012) “ Regulation of inflorescence architecture by novel peptide hormones via communication between endodermis and phloem ” The 23rd International Conference on Arabidopsis Research, Vienna, Austria, 7 月 5 日

(24) Uchida N (2012) “ Regulation of inflorescence architecture by intertissue layer ligand-receptor communication between endodermis and phloem. ” Plant Vascular Development 2012, Vienna, Austria, 7 月 2 日

(25) Uchida N, Lee JS, Torii KU, Tasaka M. (2012) “ Regulation of inflorescence architecture by intertissue layer ligand-receptor communication between endodermis and phloem. ” A New Generation of Plant Embryo Research, 奈良, 10 月 29 日

(26) Uchida N, Ogawa T, Igari K, Tasaka M. (2012) “ A novel model system to study the rapid diversification of R genes. ” GENETIC STABILITY & CHANGE: Genome maintenance mechanisms in plants, Roscoff, France, 5 月 12 日

〔その他〕
ホームページ等
<http://www.itbm.nagoya-u.ac.jp/ja/members/n-uchida/>

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

打田 直行 (UCHIDA, Naoyuki)
名古屋大学・トランスフォーマティブ生命分子研究所・特任准教授
研究者番号 : 40467692