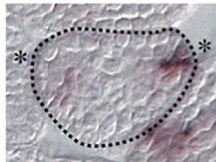


植物の体づくりの秘密を探る

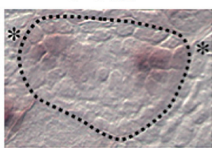
葉や花、根はそれぞれ印象的な形を持っており、内部の組織や細胞は秩序のある美しい配列を示している。茎や根の先端には、活発に分裂する未分化な細胞集団（分裂組織）があり、植物の器官はこの細胞集団から作られるが、むやみに分裂しても規則的な細胞の配列や対称的な形にはならない。植物の細胞は互いに情報を交換して分裂のタイミングや方向を決めることによって、細胞が規則正しく配列した機能的な構造を作ると考えられる。私たちは、植物の器官が作られる際に働く細胞間の情報交換の分子機構を理解することを目的としている。

中間領域因子

WOX1

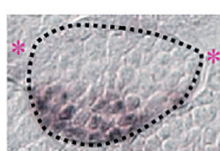


PRS



裏側因子

KAN1

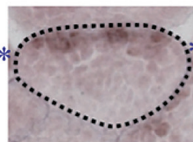


FIL



表側因子

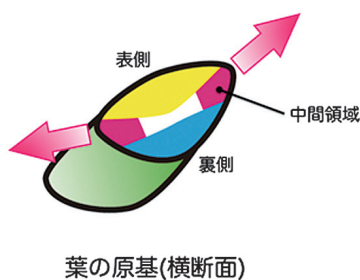
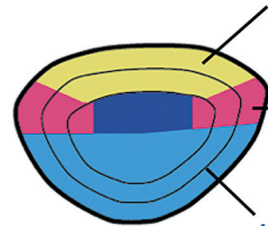
AS2



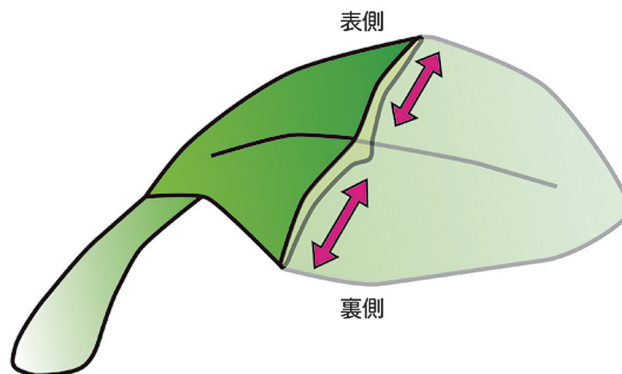
AS2, HD-ZIPIII

PRS, WOX1, FIL

KAN1, FIL



葉の原基(横断面)



成長した葉

Members

所長
岡田 清孝

助教
立松 圭

博士研究員
中田 未友希
矢部 公彦

特別共同利用研究員
為重 才覚
(京都大学)

技術支援員
都築 夕美子
松本 美和子

事務支援員
坂神 真理

葉は、細胞分裂をもっぱら横方向に繰り返すことにより、薄くて広い形に成長する（右下図矢印）。葉の原基は表側因子と裏側因子がそれぞれ発現する領域に加えて、その両者に挟まれた *PRS* 遺伝子と *WOX1* 遺伝子が発現する中間領域の3つに分けられる（上図）。表側領域、中間領域、裏側領域それぞれの性質を司る制御遺伝子が互いに拮抗的に作用することで、葉の発生初期段に3領域の正しいパターンが形成される。葉の横方向に偏った成長は中間領域で *PRS* と *WOX1* 遺伝子が働くことにより促される（左下図）。

葉の表裏の区別を生じる仕組みを探る

成熟した葉の断面を調べると、表側表皮の下に細長い細胞が密に並んだ柵状組織、その下には丸い細胞が空隙をもって散らばった海绵状組織、さらに裏側表皮の順に並んでおり、表側で光を受け、裏側でガス交換して効率よく光合成を進めることが可能になっている。しかし、葉の表裏の区別を生じる仕組みは長く謎のままである。

この問題を解決するために、本研究室では、いくつかの実験手法を使って研究を進めている。分子遺伝学的手法を用いた研究では、葉の裏側領域で発現し、裏側組織の形成に必要な *FIL* 遺伝子の発現が異常になったシロイヌナズナの突然変異体を多数分離して解析している。*enf1* 突然変異体では表裏の領域を決定する機構がうまく働いていない。*ENF1* 遺伝子はコハク酸セミアルデヒド (SSA) 脱水素酵素をコードしており、SSA またはその代謝産物が葉の表裏領域決定に関与していることを示した (Toyokura *et al.* 2011)。茎頂分裂組織に形成された直後の葉原基ではすべての細胞が裏側領域に属しているが、原基の育成にともなって表側領域が拡大する。裏側領域が大きくなった *enf2* 突然変異体では、表側領域の拡大過程が遅れることがわかった。現在、*enf2* 変異の原因遺伝子を同定して、葉の表裏の領域決定に関わる新たな分子機構を探っている。また、表側組織の形成に必要な PHB タンパク質が正確に葉の表側領域で働くためには、そのプロモーター領域の活性とマイクロRNA(miR165/166) による裏側領域での発現抑制の両方が必要であることがわかっている。これらマイクロRNAが、どのような仕組みで裏側領域の細胞だけで機能しているのか、についても解析を進めている。さらに、葉の周縁部に特異的な細長い表皮細胞の形成に *PRS* 遺伝子と *WOX1* 遺伝子が必要であることもわかっている。この2つの遺伝子は葉原基の周縁部で発現しており、その発現領域は葉の表側・裏側それぞれに分化する領域に挟まれていることが明らかになった (中間領域、左ページ図)。分子遺伝学的解析から、*PRS* と *WOX1* は葉の横方向への成長を引き起こすことがわかっている。こうしたことから、葉の発生の初期段階で、葉の表側・裏側領域だけでなく、*PRS* と *WOX1* が働く中間領域も含めた3領域が決定されることで葉の正常な分化が起こるという新しいモデルを提唱した (Nakata *et al.* 2012)。

茎頂分裂組織の機能に関わるペプチド

一方、生化学的方法を用いた研究では、食用カリフラワー

の花序塊の細胞間隙に存在するペプチドを集め、LC-MS/MS によって部分的なアミノ酸配列を調べて、分裂組織の機能に関わるシグナルペプチドを探索している。シロイヌナズナ幼植物に精製したペプチド画分を投与し、形態変化を指標に、生理活性を持つ画分を精製した。その結果、茎頂分裂組織の数を増やす効果を示す画分が得られた (図1)。LC-MS/MS によって画分に含まれるペプチドの配列を決定し、その配列を元に作成した大腸菌組換えタンパク質をシロイヌナズナに投与したところ、同様に茎頂分裂組織の数が増加した。現在、分子遺伝学的手法を用いて、得られたペプチド候補遺伝子の茎頂分裂組織における役割を調べている。

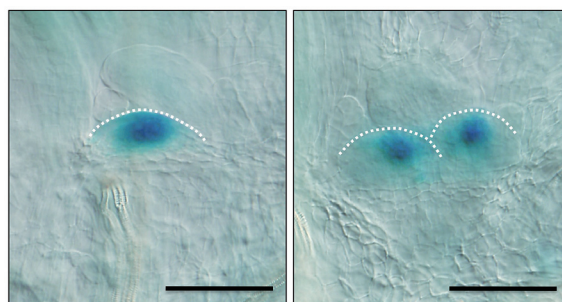


図1. 上記のペプチド画分を投与したシロイヌナズナ茎頂 (右) と未処理の茎頂 (左)

青色は茎頂分裂組織で発現する *CLV3* 遺伝子の発現を表す。白い破線は茎頂分裂組織を示す。

参考文献

1. Toyokura, K., Hayashi, M., Nishimura, M., and Okada, K. (2012) Adaxial-abaxial patterning: A novel function of the GABA shunt. *Plant Signal. Behav.* (in press)
2. Nakata, M., Matsumoto, N., Tsugeki, R., Rikirsch, E., Laux, T., and Okada, K. (2012) Roles of the middle domain-specific WUSCHEL-RELATED HOMEBOX genes in early development of leaves in Arabidopsis. *Plant Cell* 24. 519-535.
3. Sakai, T., Mochizuki, S., Haga, K., Uehara, Y., Suzuki, A., Harada, A., Wada, T., Ishiguro, S., Okada, K. (2012). The WAVY GROWTH 3 E3 ligase family controls the gravitropic response in Arabidopsis roots. *Plant J.* 70, 303-314.
4. Ueda, M., Matsui, K., Ishiguro, S., Kato, T., Tabata, S., Kobayashi, M., Seki, M., Shinozaki, K., and Okada, K. (2011). Arabidopsis RPT2a encoding the 26S proteasome subunit is required for various aspects of root meristem maintenance, and regulates gametogenesis redundantly with its homolog, RPT2b. *Plant Cell Physiol.* 52, 1628-1640.
5. Toyokura, K., Watanabe, K., Oiwa, A., Kusano, M., Tameshige, T., Tatematsu, K., Matsumoto, N., Tsugeki, R., Saito, K., and Okada, K. (2011). Succinic Semialdehyde Dehydrogenase is Involved in the Robust Patterning of Arabidopsis Leaves along the Adaxial-Abaxial Axis. *Plant Cell Physiol.* 52, 1340-1353.

所長
岡田 清孝



助教
立松 圭

