



分野：自然科学系

キーワード：植物、側根、内鞘、オーキシン、幹細胞

植物が地上に繁栄できた鍵 —側根を作る幹細胞性を支配するタンパク質を発見—

【研究成果のポイント】

- ◆ 根の枝である側根を作ることができるのは内鞘^{*1}細胞と呼ばれる細胞である。本研究で、シロイヌナズナ^{*2}の内鞘細胞が持つ側根形成能力を支配しているのは、二つのタンパク質からできているPFA/PFB転写因子^{*3}複合体であることを発見した。
- ◆ 側根形成には植物ホルモンであるオーキシンが重要な役割を果たしている。植物の根にオーキシンを与えると内鞘細胞だけが細胞分裂する。PFA/PFBがこの過程に必須であることがわかった。
- ◆ PFA/PFBを制御することで、作物などの側根数を最適化できる可能性がある。

❖ 概要

大阪大学大学院理学研究科の張 燁(チャン イエ) 特任研究員(現在奈良先端科学技術大学院大学)、柿本辰男教授らの研究グループは、産業技術総合研究所生物プロセス研究部門の光田展隆グループ長、理化学研究所環境資源科学研究センターの松井南グループディレクター、埼玉大学理工学研究科の高木優教授らと共同で、**植物の側根を作る内鞘細胞の能力を支配する主要遺伝子を世界で初めて明らかに**しました。

❖ 研究の背景

植物は進化の過程で側根形成能力を獲得し、広く根を張れるようになったことで地上に繁栄できるようになりました。側根原基^{*4}は根の内部に存在する内鞘細胞が植物ホルモンであるオーキシンに応答することで細胞分裂によって作られます(図1)。これまでに側根形成に関する研究は盛んに行われてきましたが、この内鞘細胞が持つ、側根形成を行う幹細胞^{*5}のような機能の分子基盤についてほとんど研究されていませんでした。

❖ 本研究の成果

細胞の性質は各細胞種に特有の遺伝子発現のパターンによって決められ、その遺伝子発現パターンは少数の転写制御因子の支配下にあることが多いので、内鞘細胞が持つ特有の幹細胞性を支配する転写因子を見出すためのスクリーニングを行いました。ここでは、内鞘細胞だけで緑色蛍光タンパク質(GFP)が発現するシロイヌナズナ株 J0121 を利用しました。まず、内鞘細胞において高発現している転写因子を候補として選び、それらに対応する遺伝子を J0121 株に導入して植物体全体で過剰発現させました。過剰発現した遺伝子が内鞘細胞の性質を支配する遺伝子であれば、J0121 株の GFP も植物体全体で発現すると考えました。このスクリーニングにより、**basic helix-loop-helix (bHLH)と呼ばれるグループに属する複数の転写因子が見出されました**(図2)。

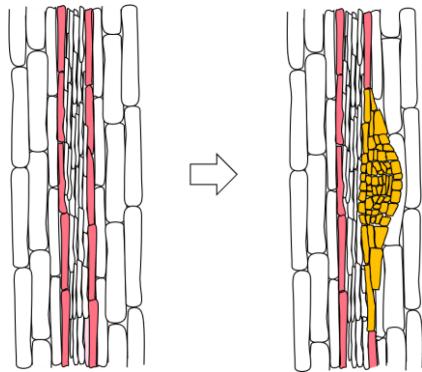
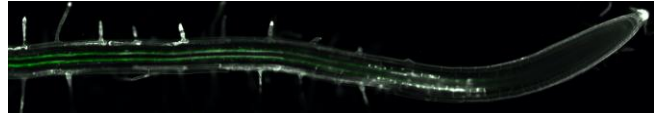


図 1. 植物の側根は、内鞘細胞（赤色で示す）が細胞分裂することで形成されます。

J0121系統、コントロール



J0121系統、PFA1 過剰発現体

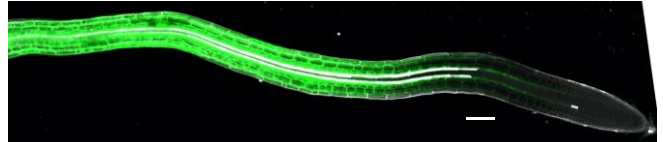


図 2. J0121 系統では内鞘細胞の性質を持つ細胞が GFP の緑色蛍光を発する。通常は内鞘細胞だけで発現している PFA2 遺伝子を植物全体で発現させると、内鞘細胞の性質を示す J0121 の GFP 蛍光が内鞘細胞以外でも見られるようになりました。PFA2 は内鞘細胞の性質を誘導することがわかります。

これらの互いに良く似た六つの遺伝子を PFA1 - PFA6 と名付けました。PFA は通常は内鞘細胞で発現します (図 3)。野生型植物にオーキシンを与えると、内鞘細胞だけが細胞分裂を行い、多くの側根原基が形成されます。PFA を過剰発現する植物にオーキシンを与えると、全ての細胞が細胞分裂を行い、初期側根原基のようなものが形成されました (図 4)。これは、PFA が内鞘細胞としての機能を付与する能力があることを示しています。次に、CRISPR-Cas9 法^{※6}を用いて PFA1-PFA6 遺伝子を全て破壊したところ、側根数が極端に減り (図 5)、また、オーキシンを与えても内鞘細胞はほとんど細胞分裂を起こしませんでした。これにより、PFA1-PFA6 はオーキシンを介した内鞘細胞の側根原基形成能を支配していると言えます。

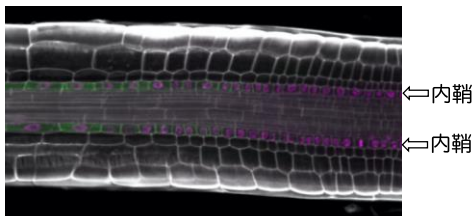


図 3. PFA2 遺伝子と赤色蛍光タンパク質遺伝子の融合遺伝子は、PFA2 が内鞘細胞で発現していることを示しています (マゼンタ色)。

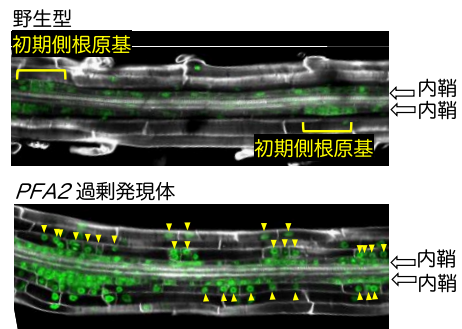


図 4. シロイヌナズナの根にオーキシンを与えると、内鞘細胞だけが細胞分裂を起こして側根原基が形成されます (上図)。ところが、PFA2 を植物全体で発現させておくと、内鞘細胞以外も細胞分裂を起こします (下図)。ここでは核の DNA は緑色に染色しており、下図では、内鞘以外でも細胞分裂で増えた核が確認できます (矢頭)。

Press Release

野生型シロイヌナズナ



6つのPFA遺伝子の破壊株



図 5. 6つの PFA 遺伝子を破壊すると、側根がほとんど形成されなくなります。

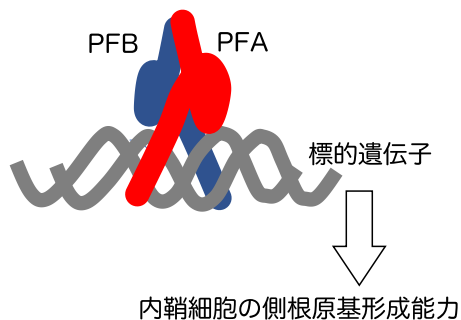


図 6. PFA/PFB 複合体による内鞘細胞の幹細胞性制御のモデル。PFA/PFB はターゲット遺伝子を制御することで内鞘細胞特有の幹細胞性を制御する。

次に、PFA 転写因子が他の転写因子と複合体を作っている可能性を考え、パートナーを探索しました。特定のタンパク質に結合するタンパク質を探索する方法の一つとして酵母 2 ハイブリッド法^{*7}があります。ここでは、酵母 2 ハイブリッド法を大幅に改良しました。産業技術総合研究所の光田らと理化学研究所の松井らのグループが中心となり、シロイヌナズナが持つほぼ全ての転写因子 1,736 個をクローニングしました。これらを酵母に導入することで、特定の転写因子と結合する転写因子を探ることができますが、その作業はロボットによって非常に再現良く行えるようになりました。これにより、PFA とペアとなっている転写因子を見出し、PFB1 と PFB2 と名付けました。PFB1 と PFB2 は PFA とは少し構造が違いますが、bHLH に分類される転写因子です。転写因子がペアとなって働くと DNA の広い領域を認識することができて標的を正確に認識できると考えられます。PFB は様々な種類の細胞で発現しています。内鞘細胞では PFB は PFA と結合して側根原基を作る能力を与え（図 6）、他の細胞では他の bHLH とペアとなって別の機能を制御しているらしいこともわかってきました。

❖ 本研究成果が社会に与える影響（本研究成果の意義）

高等植物が地上の様々なところに繁茂できるようになった大きな理由の一つである内鞘細胞の側根形成能力を支配する仕組みを解明したことは、植物科学における大きな進展です。将来、PFA/PFB 系を制御することで作物の根系を環境に最適化する技術が生まれる可能性があります。また、内鞘細胞は強い分化全能性を持っているため、植物の分化全能性を制御することで、これまでクローン植物や遺伝子操作ができなかった植物でもこれを可能にすると期待できます。

❖ 特記事項

本成果は、2021 年 5 月 19 日(水)午前 0 時(日本時間)に英国科学誌「Nature Plants」に公開されます。

論文タイトル：Two types of bHLH transcription factors determine the competence of pericycle for lateral root initiation

著者：Ye Zhang, Nobutaka Mitsuda, Takeshi Yoshizumi, Yoko Horii, Yoshimi Oshima, Masaru Ohme-Takagi, Minami Matsui, Tatsuo Kakimoto*

DOI 番号：10.1038/s41477-021-00919-9

なお、本研究は、日本学術振興会科研費 19H03246, 19K22430；文部科学省科研費 18H04837, 20H04886, 25113006；日本学術振興会特別研究員 13J01792 の支援により行われました。

Press Release

❖ 用語説明

※1 内鞘

維管束組織の外側にある細胞層で、無期限に細胞増殖能力を維持し、自発的にオーキシニックを形成して細胞分裂を行い、側根原基を形成する。

※2 シロイヌナズナ

アブラナ科の植物で、モデル植物として広く用いられている。

※3 転写因子

DNA に結合し、近傍の遺伝子群の発現を制御するタンパク質。

※4 側根原基

側根の元となる組織で、幹細胞が規則正しく配置されて分裂組織（メリステム）となる。側根として伸びると、メリステム部分は側根の根端となって根の伸長に必要な細胞を供給し続ける。

※5 幹細胞

一般に、幹細胞は、自己複製能と様々な細胞に分化する能力（多分化能）を持つ細胞のことを言う。内鞘細胞は、無期限に細胞分裂能力を維持し、幹細胞を含む組織である側根分裂組織を形成する。内鞘細胞は幹細胞を生み出すための細胞であり、広い意味での幹細胞と言える。

※6 CRISPR-Cas9 法

ゲノム編集の手法。ここでは、特定の遺伝子を破壊するために用いた。

※7 酵母 2 ハイブリッド法

酵母中で二つのタンパク質を発現させ、結合すれば酵母が生育できるなどの表現型を示すようにデザインされる。

❖ 本件に関する問い合わせ先

<研究に関すること>

大阪大学 大学院理学研究科 教授 柿本辰男（かきもと たつお）

TEL：06-6850-5421

E-mail：kakimoto@bio.sci.osaka-u.ac.jp

<広報・報道に関すること>

大阪大学 理学研究科 庶務係

TEL：06-6850-5280 FAX：06-6850-5288

E-mail：ri-syomu@office.osaka-u.ac.jp

理化学研究所 広報室 報道担当

E-mail：ex-press@riken.jp



❖ 参考 URL

柿本辰男教授 研究者総覧 URL <http://osku.jp/t0094>

【柿本辰男教授のコメント】

内鞘は自発的にオーキシン濃度の高い領域を作り、これに応答して細胞分裂を起こし、側根原基を作る大変興味深い組織です。今回は内鞘細胞の性質を支配する転写因子を見つけましたが、未解明の問題がたくさん残っており、興味が尽きない組織です。