

# 形態制御研究チーム

## Laboratory for Gene Regulation

チームリーダー 出村 拓  
DEMURA, Taku

植物が独自に持つ特徴として、成熟した細胞から植物個体を再生する能力（分化全能性）を挙げることができる。この分化全能性の基底には細胞の分化転換過程が存在するが、この過程を制御する分子メカニズムは未だ解明されていない。当研究チームでは、ヒヤクニチソウの単離葉肉細胞から維管束組織構成細胞である管状要素（道管、仮道管）への分化転換 *in vitro* 培養系をモデルとして、植物の分化全能性と形態形成を制御する分子メカニズムにアプローチする。具体的な研究手法としては、この *in vitro* 植物細胞分化転換過程で発現する遺伝子群のカタログ化、マイクロアレイを用いた発現解析、モデル植物であるシロイヌナズナを用いた reverse genetics により、植物の分化全能性と形態形成に関わる遺伝子発現調節機構とシグナル伝達機構を解析する。

1. 植物細胞分化転換関連遺伝子のカタログ化（出村，田代，井原，久保，福田<sup>\*1</sup>）

植物細胞の分化転換に関わる遺伝子群のカタログ化の基礎となる EST の整備を進めた。ヒヤクニチソウ *in vitro* 細胞分化転換過程後期の細胞から作成した均一化 cDNA ライブラリーより約 9000cDNA をクローン化した。さらに、決定した塩基配列をもとにしたクラスタリング解析やホモロジーサーチをセミオートで進めるプログラムを独自に開発し、これによる発現遺伝子のカタログ化を進めた。その結果、クローン化した約 9000cDNA には多様なタンパク質をコードする約 8000 種類の cDNA 断片が含まれていることが分かった。さらに、植物細胞分化転換初期における発現遺伝子のカタログ化に向けて、培養初期の均一化ライブラリーの作成に着手した。

2. cDNA マイクロアレイを用いた植物細胞分化転換関連遺伝子の網羅的発現解析（出村，岡村<sup>\*2</sup>，松岡<sup>\*2</sup>，田代，福田<sup>\*1</sup>）

カタログ化した約 9000 クローンの cDNA インサートを PCR により増幅し、マイクロアレイスポットターを用いてスライドガラスにスポットした。続いて、*in vitro* 細胞分化転換過程の各時期の細胞における遺伝子発現を DNA マイクロアレイを用いて網羅的に解析した。その結果、分化転換過程で発現する多数の新規な遺伝子群を同定することができた。これらの中には、管状要素の形態的な特徴である局所的な二次細胞壁の形成に関わると予想されるセルロース合成酵素などの多糖類合成酵素群や、細胞内自己分解に関わると予想されるリパーゼなどの加水分解酵素群をコードする遺伝子が含まれていた。

3. 植物細胞分化転換関連遺伝子の機能解析（岡村<sup>\*2</sup>，

田代，福田<sup>\*1</sup>，出村）

ヒヤクニチソウ *in vitro* 細胞分化転換過程で発現する遺伝子群の機能を明らかにするための前段階として、詳細な発現解析を行った。特に、細胞内自己分解に関わると予想されたリパーゼ遺伝子群の中に、分化転換過程の後期に一過的、かつ特異的に発現するリパーゼ遺伝子が含まれていることを見いだした。

<sup>\*1</sup> グループディレクター，<sup>\*2</sup> 研修生

誌上発表 Publications  
（原著論文） \*印は査読制度がある論文誌

Nakashima J., Takabe K., Fujita M., and Fukuda H.: "Autolysis during *in vitro* tracheary element differentiation: Formation and location of the perforation", *Plant Cell Physiol.* **41**, 1267–1271 (2000). \*

Endo S., Demura T., and Fukuda H.: "Inhibition of proteasome activity by the TED4 protein in extracellular space: A novel mechanism for protection of living cells from injury caused by dying cells", *Plant Cell Physiol.* **42**, 9–19 (2001). \*

Motose H., Sugiyama M., and Fukuda H.: "An arabinogalactan protein(s) is a key component of a fraction that mediates local intercellular communication involved in tracheary element differentiation of zinnia mesophyll cells", *Plant Cell Physiol.* **42**, 129–137 (2001). \*

Fukuda H.: "Programmed cell death of tracheary elements as a paradigm in plants", *Plant Mol. Biol.* **44**, 245–253 (2000). \*

Sugiyama M., Ito J., Aoyagi S., and Fukuda H.: "Endonuclease", *Plant Mol. Biol.* **44**, 387–397 (2000). \*

Yamamoto R., Fujioka S., Demura T., Takatsuto S., Yoshida S., and Fukuda H.: "Brassinosteroid levels increase drastically prior to morphogenesis of tracheary elements", *Plant Physiol.* **125**, 556–563 (2001). \*

Obara K., Kuriyama H., and Fukuda H.: "Direct evidence of active and rapid nuclear degradation triggered by vacuole rupture during programmed cell death in zinnia", *Plant Physiol.* **125**, 615–626 (2001). \*

Sato-Nara K. and Fukuda H.: "The rates of deceleration of nuclear and organellar DNA syntheses differ in the progenitor cells of the apical meristems during carrot somatic embryogenesis", *Planta* **211**, 457–466 (2000). \*

口頭発表 Oral Presentations

(国際会議等)

Demura T., Tashiro G., and Fukuda H.: "Comprehensive analysis of gene expression during vascular development using cDNA microarrays", Keystone Symp. on System Approach to Plant Biology, Big Sky, USA, Jan. (2001).

Demura T.: "Dynamic alteration of gene expression during vascular cell differentiation", Int. Wood Biotechnology Symp. (IWBS), (Japan Society for Promotion of Science Research-for-the Future Program), Narita, Mar. (2001).

(国内会議)

出村拓: "維管束組織形成における遺伝子発現制御機構", 生物科学セミナー, (東京大学理学部生物学科植物学教室), 東京, 10月(2000).

福田裕穂: "植物細胞分化におけるブラシノステロイドのはたらき", 第4回岡崎機構セミナー「統合バイオサイエンス」, (岡崎コンファレンス), 岡崎, 2月(2001).

本瀬宏康, 杉山宗隆, 福田裕穂: "アラビノガラクタンタンパク質は管状要素分化に必要な局所的な細胞間相互作用を仲介する", 日本植物生理学会 2001年度年会, 福岡, 3月(2001).

山本亮, 出村拓, 福田裕穂: "ハクニチソウ管状要素分化過程でのブラシノステロイド合成関連遺伝子の発現調節", 日本植物生理学会 2001年度年会, 福岡, 3月(2001).

篠原直貴, 出村拓, 福田裕穂: "ファージディスプレイ差引き法を用いた木部細胞壁成分を認識するモノクローナル抗体の単離", 日本植物生理学会 2001年度年会, 福岡, 3月(2001).

大橋恭子, 出村拓, 福田裕穂: "維管束分化に関わるハクニチソウ HD-Zip 型クラス (III) ホメオボックス遺伝子の単離と解析", 日本植物生理学会 2001年度年会, 福岡, 3月(2001).

井藤純, 中島仁, 福田裕穂: "管状要素自己分解過程における加水分解酵素の空間的解析", 日本植物生理学会 2001年度年会, 福岡, 3月(2001).

遠藤暁詩, 出村拓, 福田裕穂: "未成熟な木部細胞から分泌された TED4 タンパク質は管状要素に隣接する細胞を守る", 日本植物生理学会 2001年度年会, 福岡, 3月(2001).

---

### *Research Subjects and Members of Laboratory for Gene Regulation*

1. Cataloging of Genes Associated with Transdifferentiation of Plant Cells
2. Comprehensive Analysis of Gene Expression Pattern during Transdifferentiation of Plant Cells Using cDNA Microarrays
3. Functional Analysis of Genes Associated with Transdifferentiation of Plant Cells

#### *Laboratory Head*

Dr. Taku DEMURA

#### *Researchers*

Dr. Minoru KUBO

#### *Technical Staffs*

Mr. Gen TASHIRO

Ms. Ayumi IHARA

#### *Trainees*

Mr. Makoto ENDO (Fac. Agr., Iwate Univ.)

Ms. Naoko MATSUOKA (Fac. Sci., Univ. Tokyo)

Mr. Yoshimichi OKAMURA (Fac. Sci., Univ. Tokyo)

#### *Assistants*

Ms. Hiromi ITO