

根端メリシステムのサイズ制御機構

高橋 直紀¹・梅田 正明^{1,2}

¹ 奈良先端科学技術大学院大学 バイオサイエンス研究科

² 科学技術振興機構・CREST

〒630-0192 奈良県生駒市高山町 8916-5

Mechanisms controlling root meristem size

Key words: root meristem, endoreplication, cytokinin

Naoki Takahashi¹, Masaaki Umeda^{1,2}

¹ Graduate School of Biological Sciences, Nara Institute of Science and Technology,

Takayama 8916-5, Ikoma, Nara 630-0192, Japan

²JST, CREST, Takayama 8916-5, Ikoma, Nara 630-0192, Japan

1. はじめに

植物の根は、土中から水分や養分、ミネラルなどを吸収するとともに、物質の貯蔵や栄養分の輸送などを行なう。さらには、植物体全体を頑強に支持する役割も果たすことから、その伸長は植物体全体の生育、成長に大きな影響を与える。主根を構成する細胞は、根端に存在する分裂領域（根端メリシステム）での細胞増殖により作り出される。そして、それらの細胞が複数回の細胞分裂を繰り返した後に、分裂を停止し、細胞伸長を始める。つまり、根の伸長は、根端メリシステムでの細胞分裂の速度と細胞伸長への転換のタイミングと、その後の細胞伸長の速度により決定されることとなる。一般的に、根の伸長スピードは根端メリシステムのサイズと相関することから、根端メリシステムのサイズ制御は根の成長において特に重要となる。例えば、土壤中に十分な栄養素が存在するなど、外部環境が植物の成長に適している場合、根端メリシステムでの細胞分裂活性が高くなり、メリシステムのサイズが拡大することで根の伸長が促進される。一方で、高温や乾燥などの環境ストレスに曝されると、根端メリシステムでの細胞分裂が阻害されることで、メリシステムサイズが縮小し、根の伸長が抑制される。最近の研究で、サイトカイニンやオーキシンなどの植物ホルモンが、根端メリシステムのサイズ制御に重要な役割を果たしていることが報告されている。本稿では、根端メリシステムサイズを制御する最近の知見を、我々の研究成

果も含めて紹介したい。

2. 根端の構造

シロイヌナズナの場合、根端メリシステムの周りを根冠（コルメラと側根冠）が保護している。根冠は多細胞層からなる帽子状の構造をしており、土粒子などとの摩擦から根端メリシステムを守っている。また、コルメラ層の上には、分裂活性の低い静止中心と呼ばれる細胞が存在する。静止中心は、周囲を取り囲むように存在する幹細胞の未分化状態の維持に重要な役割を果たしていると考えられている。そして、メリシステム領域では、活発な細胞分裂が行われており、主根を構成する細胞を生み出している。また、移行領域では、細胞分裂は停止しており、核DNA量の増加に伴った細胞伸長が行われている。さらに、分化伸長領域では、細胞が急激に伸長し始めることで細胞体積が著しく増加する（図1）。

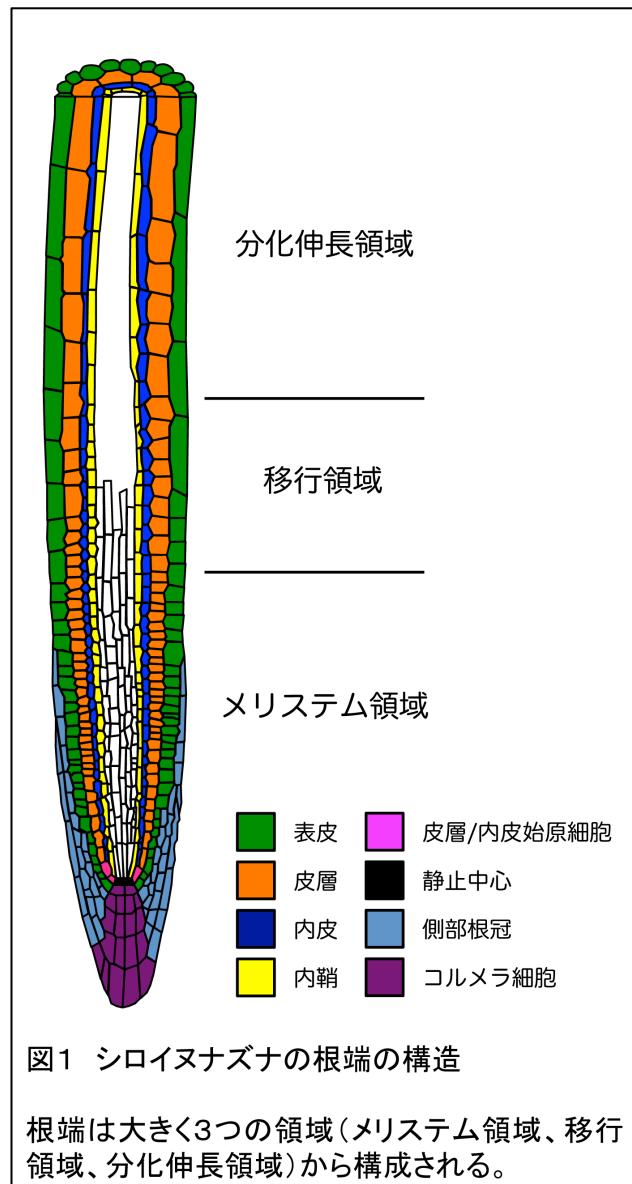


図1 シロイヌナズナの根端の構造

根端は大きく3つの領域（メリシステム領域、移行領域、分化伸長領域）から構成される。

3. 細胞周期制御による根端メリシステムのサイズ制御

細胞分裂周期は、DNA複製を行うS期、染色体分離と細胞質分裂を行うM期、そしてS期とM期の間に存在するG1とG2期からなる。根端メリシステムでは、この細胞分裂周期が複数回繰り返されることにより細胞が増殖する。一方、分裂により作られた細胞は、根の移行領域に達すると細胞分裂を停止し、M期をスキップするDNA倍加周期に移行する。DNA倍加周期では、細胞分裂が行われず、S期とG期を繰り返すことにより、核内のDNA量が倍々に増加する。ま

た、それにともない、細胞体積も増加することから、根の移行領域では細胞伸長が同時に起きる。そのことから、根端メリステムから移行領域への移行は、細胞分裂周期からDNA倍加周期への移行のタイミングと相関することになる。

現在までに、細胞分裂周期からDNA倍加周期への移行には、サイクリン依存性キナーゼ(CDK)活性の低下が必要であると考えられている(De Veylder et al., 2011)。CDKの活性低下の要因の一つとして、CDKと複合体を形成するサイクリンタンパク質の分解が挙げられる(Capron et al., 2003)。サイクリンタンパク質はE3ユビキチンリガーゼであるAnaphase promoting complex/cyclosome(APC/C)複合体によりユビキチン化され、分解制御を受けることが知られており(Boudolf et al., 2009)、APC/Cの活性化因子の一つであるCCS52A1がDNA倍加周期への移行を促進することが報告されている(Larson-Rabin et al., 2009)。根端においては、CCS52A1遺伝子は移行領域で特異的に発現することで、細胞をDNA倍加周期へと移行させ、細胞伸長を促進する(Vanstraelen et al., 2009; Takahashi et al., 2013)(図2A)。CCS52A1を欠損した植物では、根端でのDNA倍加周期への移行が抑制されることから、根端メリステムサイズの拡大が観察される(Takahashi et al., 2013)。

根の移行領域でのCCS52A1遺伝子の発現制御には、サイトカイニンシグナルが直接関与していることが、我々の最近の研究により明らかにされている(Takahashi et al., 2013)。サイトカイニンは細胞膜上の受容体ヒスチジンキナーゼによって感知され、そのシグナルがHis-Aspリン酸リレーを介して転写

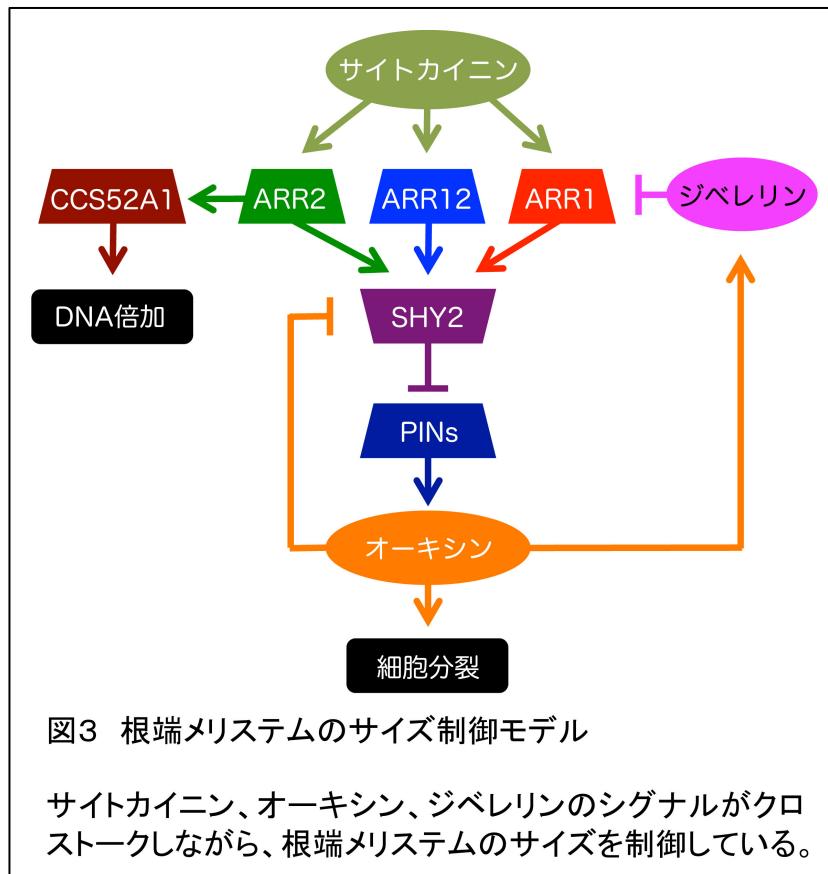
図2 根における細胞分裂周期からDNA倍加周期への移行機構

(A) 根でのCCS52A1遺伝子の発現様式(*ProCCS52A1:NLS-GFP*)。CCS52A1遺伝子は根の移行領域で強く発現している。(B) サイトカイニンシグナルは、ARR2転写因子を介してCCS52A1遺伝子の転写を直接制御している。

因子型レスポンスレギュレーター (type-B ARR) へと伝達され、その結果、様々な機能を有する初発応答遺伝子の転写が活性化される (Hwang et al., 2012)。我々は、*CCS52A1* 遺伝子の発現制御解析を行なったところ、type-B ARR の一つである ARABIDOPSIS RESPONSE REGULATOR 2 (ARR2) が *CCS52A1* 遺伝子のプロモーター領域に結合し、転写を活性化することを見出した (Takahashi et al., 2013)。ARR2 タンパク質は *CCS52A1* 遺伝子と同様に、根の移行領域で特異的に蓄積していることから (Kim et al., 2012; Takahashi et al., 2013)、根の移行領域でのサイトカイニンシグナルの活性化が、根端メリシステムサイズの制御に非常に重要な役割を果たしていると考えられる (図 2B)。以前の研究で、根の移行領域で特異的にサイトカイニン量を低下させるだけで、根端メリシステムサイズが拡大することが報告されている (Dello Ioio et al., 2007)。この結果からも、根の移行領域でのサイトカイニンシグナルの活性化が、根端メリシステムのサイズ制御に重要な役割を果たしていることが伺える。

4. 植物ホルモン間のクロストークによる根端メリシステムのサイズ制御

根端メリシステムのサイズは、サイトカイニンの他にもオーキシンなどの植物ホルモンシグナルが、複雑かつ厳密に相互作用しながら制御されている。オーキシンシグナルの抑制に働く AUX/IAA ファミリーの SHORT HYPOCOTYL 2 (SHY2) は、サイトカイニンシグナルとオーキシンシグナルの両方の制御を直接受けることにより、根端メリシステムサイズの制御において重要な



役割を果たしていることが知られている (Dello Ioio et al., 2008)。根端でのサイトカイニンシグナルが高い場合、サイトカイニンシグナルに関わる ARR1 と ARR12 が *SHY2* 遺伝子の転写を活性化することにより、オーキシンの輸送に関わる *PIN* 遺伝子の発現を低下させる (Dello Ioio et al., 2008)。そして、オーキシンの流れを阻害することにより、根端メリシステムでの細胞分裂活性が抑制され、根端メリシステムサイズが縮小する。逆に、オーキシンシグナルが高い場合は、ユビキチンを介したタンパク質分解系により、*SHY2* タンパク質が速やかに分解され、*SHY2* によるオーキシンシグナルの抑制が解除される (Tian et al., 2003)。根では、これらの植物ホルモンの量やシグナル強度が時空間的に厳密に制御されることにより、成長や環境に応じた根端メリシステムサイズのコントロールがなされていると考えられる (図3)。

さらに、HD-zip III 型転写因子である *PHABULOSA* (PHB) と *PHAVULOTA* (PHV) もサイトカイニン合成を促進することで、根端メリシステムのサイズ制御に関わっていることが知られている (Dello Ioio et al., 2012)。PHB はサイトカイニンの生合成に関わる *ISOPENTENYL TRANSFERASE 7* (IPT7) 遺伝子の発現を直接誘導することにより、根端でのサイトカイニンシグナルの活性化に関わる。そのため、*phb phv* 欠損変異体では、サイトカイニン欠損変異体と同様に、根端メリシステムのサイズが拡大することで、野生型植物より根が伸長する。一方で、サイトカイニンシグナルが高いと、フィードバック制御が働くことで、*PHB* 遺伝子の発現抑制が行われる。さらに、PHB はマイクロ RNA である *MIR165/166* により抑制されることが知られているが (Carlsbecker et al., 2010)、サイトカイニンシグナルは *MIR165A* の転写も抑制することにより、*PHB* mRNA 量を適切に調節していることが報告されている (Dello Ioio et al., 2012)。これらの結果から、サイトカイニンは *PHB* や *MIR165A* の量を微調節することにより、外部環境に合わせた根端メリシステムサイズを決めている可能性が考えられる。

5. DNA 損傷ストレスに応じた根端メリシステムのサイズ制御

植物は紫外線などの環境ストレスを受けると、細胞内で活性酸素が蓄積し、DNA が損傷を受ける (Barzilai & Yamamoto, 2004; Baxter et al., 2014)。さらに、土壤中に含まれるアルミニウムやホウ素、また病原菌の感染などによっても DNA が損傷することが知られている (Rounds & Larsen, 2008; Ciccia & Elledge, 2010; Sakamoto et al., 2011; Song and Bent, 2014)。植物は DNA 損傷を受けると、根端メリシステムのサイズを縮小させることで、根の伸長を積極的に抑制するこ

とが知られている (Adachi et al., 2011)。最近の我々の研究により、DNA 損傷に応じた根端メリシステムサイズの縮小には、*de novo* のサイトカイニン合成が関わっていることが明らかにされている (未発表)。植物は DNA 損傷を受けると、根の移行領域でいくつかのサイトカイニン生合成遺伝子の発現を誘導することで、内在性のサイトカイニン量を増加させる。サイトカイニンの生合成に欠損がある変異体では、DNA 損傷を受けても根端メリシステムサイズの縮小が抑えられることから、DNA 損傷ストレスに応じた根端メリシステムサイズの制御に、根の移行領域でのサイトカイニン合成が必要不可欠であると予想される。最近の研究で、塩ストレスや低温ストレスなどによっても、根端メリシステムが縮小することが報告されている (Liu et al., 2015; Zhu et al., 2015)。このことから、環境ストレスに応答した根の伸長抑制に、サイトカイニンが重要な役割を果たしている可能性が考えられる。

6. おわりに

上で述べたように、植物ホルモンが根端メリシステムのサイズ制御に関与していることが現在までに明らかにされてきた。また、今回は紹介出来なかつたが、サイトカイニンやオーキシン以外の植物ホルモンも、根端メリシステムのサイズ制御に関与していることも報告されている。しかしながら、それら植物ホルモンが、どのように時空間的に統御され、クロストークしているのかを説明するまでには至っていない。その制御の詳細を明らかにするためには、鍵因子の分子機能を詳細に解明するとともに、新たな因子を同定する必要があると考えられる。さらには、根端メリシステムから移行領域への移行の現場で起きている現象を細胞レベルで明確におさえることが重要であると考えられる。今後、根端メリシステムサイズを制御する分子メカニズムの理解がさらに進むことで、メリシステムサイズ制御に関わる鍵因子の活性を変化させ、根の成長を人為的にコントロールすることが可能になると考えられる。それにより、様々な環境に適応しうる植物の技術開発などに将来利用されることが期待される。

7. 謝辞

本稿で取り上げた我々の研究は、科学技術振興機構・CREST、科学研究費補助金（研究課題番号：22119009, 26291061, 26650099, 26113515, 26840096）、奈良先端科学技術大学院大学支援財団による助成のもと行われた。

引用文献

- Adachi, S., Minamisawa, K., Okushima, Y., Inagaki, S., Yoshiyama, K., Kondou, Y., Kaminuma, E., Kawashima, M., Toyoda, T., Matsui, M., Kurihara, D., Matsunaga, S., & Umeda, M. 2011. Programmed induction of endoreduplication by DNA double-strand breaks in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 108: 10004-10009.
- Barzilai, A., & Yamamoto, K. 2004. DNA damage responses to oxidative stress. *DNA Repair (Amst)* 3: 1109-1115.
- Baxter, A., Mittler, R., & Suzuki, N. 2014. ROS as key players in plant stress signalling. *J. Exp. Bot.* 65: 1229-1240.
- Boudolf, V., Lammens, T., Boruc, J., Van Leene, J., Van Den Daele, H., Maes, S., Van Isterdael, G., Russinova, E., Kondorosi, E., Witters, E., De Jaeger, G., Inzé, D., & De Veylder, L. 2009. CDKB1;1 forms a functional complex with CYCA2;3 to suppress endocycle onset. *Plant Physiol.* 150: 1482-1493.
- Capron, A., Okrész, L., & Genschik, P. 2003. First glance at the plant APC/C, a highly conserved ubiquitin-protein ligase. *Trends Plant Sci.* 8: 83-89.
- Carlsbecker, A., Lee, J.Y., Roberts, C.J., Dettmer, J., Lehesranta, S., Zhou, J., Lindgren, O., Moreno-Risueno, M.A., Vatén, A., Thitamadee, S., Campilho, A., Sebastian, J., Bowman, J.L., Helariutta, Y., & Benfey, P.N. 2010. Cell signalling by microRNA165/6 directs gene dose-dependent root cell fate. *Nature* 465: 316-321.
- Ciccia, A., & Elledge, S.J. 2010. The DNA damage response: making it safe to play with knives. *Mol. Cell* 40: 179-204.
- Dello Ioio, R., Galinha, C., Fletcher, A.G., Grigg, S.P., Molnar, A., Willemse, V., Scheres, B., Sabatini, S., Baulcombe, D., Maini, P.K., & Tsiantis, M. 2012. A PHABULOSA/cytokinin feedback loop controls root growth in *Arabidopsis*. *Curr. Biol.* 22: 1699-1704.
- Dello Ioio, R., Linhares, F.S., Scacchi, E., Casamitjana-Martinez, E., Heidstra, R., Costantino, P., & Sabatini, S. 2007. Cytokinins determine *Arabidopsis* root-meristem size by controlling cell differentiation. *Curr. Biol.* 17: 678-682.
- Dello Ioio, R., Nakamura, K., Moubayidin, L., Perilli, S., Taniguchi, M., Morita, M.T., Aoyama, T., Costantino, P., & Sabatini, S. 2008. A genetic framework for the control of cell division and differentiation in the root meristem. *Science* 322: 1380-1384.
- De Veylder, L., Larkin, J.C., & Schnittger, A. 2011. Molecular control and function of endoreplication in development and physiology. *Trends Plant Sci.* 16: 624-634.

- Hwang, I., Sheen, J., & Müller, B. 2012. Cytokinin signaling networks. *Annu. Rev. Plant Biol.* 63: 353-380.
- Kim, K., Ryu, H., Cho, Y.H., Scacchi, E., Sabatini, S., & Hwang, I. 2012. Cytokinin-facilitated proteolysis of ARABIDOPSIS RESPONSE REGULATOR 2 attenuates signaling output in two-component circuitry. *Plant J.* 69: 934-945.
- Larson-Rabin, Z., Li, Z., Masson, P.H., & Day, C.D. 2009. *FZR2/CCS52A1* expression is a determinant of endoreduplication and cell expansion in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 149: 874-884.
- Liu, W., Li, R.J., Han, T.T., Cai, W., Fu, Z.W., & Lu, Y.T. 2015. Salt stress reduces root meristem size by nitric oxide-mediated modulation of auxin accumulation and signaling in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 168: 343-356.
- Rounds, M.A., & Larsen, P.B. 2008. Aluminum-dependent root-growth inhibition in *Arabidopsis* results from AtATR-regulated cell-cycle arrest. *Curr. Biol.* 18: 1495-1500.
- Sakamoto, T., Inui, Y.T., Uraguchi, S., Yoshizumi, T., Matsunaga, S., Mastui, M., Umeda, M., Fukui, K., & Fujiwara, T. 2011. Condensin II alleviates DNA damage and is essential for tolerance of boron overload stress in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 23: 3533-3546.
- Song, J., & Bent, A.F. 2014. Microbial pathogens trigger host DNA double-strand breaks whose abundance is reduced by plant defense responses. *PLoS Pathog.* 10: e1004030.
- Takahashi, N., Kajihara, T., Okamura, C., Kim, Y., Katagiri, Y., Okushima, Y., Matsunaga, S., Hwang, I., & Umeda, M. 2013. Cytokinins control endocycle onset by promoting the expression of an APC/C activator in *Arabidopsis* roots. *Curr. Biol.* 23: 1812-1817.
- Tian, Q., Nagpal, P., & Reed, J.W. 2003. Regulation of *Arabidopsis* SHY2/IAA3 protein turnover. *Plant J.* 36: 643-651.
- Vanstraelen, M., Baloban, M., Da Ines, O., Cultrone, A., Lammens, T., Boudolf, V., Brown, S.C., De Veylder, L., Mergaert, P., & Kondorosi, E. 2009. APC/C^{CCS52A} complexes control meristem maintenance in the *Arabidopsis* root. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 106: 11806-11811.
- Zhu, J., Zhang, K.X., Wang, W.S., Gong, W., Liu, W.C., Chen, H.G., Xu, H.H., & Lu, Y.T. 2015. Low temperature inhibits root growth by reducing auxin accumulation via

ARR1/12. *Plant Cell Physiol.* 56: 727-736.