



プレスリリース

2023年11月13日

報道関係各位

中部大学

植物の葉の正常な初期成長を支える核小体の役割を解明

— 環境変化に強い植物の作出に期待 —

【発表のポイント】

- ・扁平な葉を形成するために核小体^(注1)の周縁部が重要な役割を担うことを発見。
- ・扁平な葉の形成に必要なAS2タンパク質のAS2/LOBドメインの分子機能を解明。
- ・環境変化に強い植物の作出の可能性を示唆。

【概要】

地球上のすべての生き物の命を支えているのが、光合成というはたらきである。光合成は、主に葉緑体を持つ植物の葉で行われる。近年の地球環境の変化は著しい。このような急激な変化に対応するには、光合成を担う扁平な葉を形成する分子的仕組みを知ることが重要である。

核小体は真核生物の細胞の核の中にあり、膜構造をもたず、液-液相分離によって形成される核内最大の構造体である。これまでに核小体は、リボソームの構築の場として知られている。今回、中部大学の町田千代子特定教授と応用生物学部 環境生物科学科の小島晶子准教授らは、核小体の周縁部が、植物の扁平で左右相称な葉の形成に重要な役割を担うことを突き止めた。

葉は地上部の幹細胞である茎頂メリステム^(注2)から造られる光合成器官である。研究対象としたAS2は、植物界にのみ存在するAS2/LOBドメインを持つタンパク質であり、葉の発生初期に核小体の周縁部にかたまり状に2個のAS2ボディとして存在し、扁平な葉を形作る鍵因子としてはたらく。2個のAS2ボディは、リボソームRNA遺伝子を含むクロモセーター^(注3)と部分的に共局在している。AS2ボディ以外にも、核小体の中のRNAヘリカーゼ(RH10)などの複数の因子が、葉の発生初期に葉形成に関わることが報告されていた。すなわち、*as2*変異体、あるいは、*rh10*変異体などのそれぞれの単独変異体では、葉の形が多少変化してもそれなりの葉を形成するが、驚くべきことに、*rh10*変異体と*as2*変異体の二重変異体では葉は棒状となり、それ以上は成長ができないことがわかった。しかし、これらの核小体タンパク質がなぜ葉の形成に関わるのかは不明であった。

本研究では、核小体タンパク質をコードする遺伝子の変異体において、AS2ボディが核小体の内部に散在していることを見出した。すでにこれらの変異体ではリボソームの構成因子であるリボソームRNAの中間体がたまっており、核小体の内部構造や核質との境界面が

異常になっていることが報告されている。本研究結果から、葉の正常な初期成長には AS2 ボディが核小体の周縁部に 2 個のかたまりとして存在することが重要であり、AS2 は AS2 ボディの正しい配置を担っている、ということが明らかになった。そのためには、核小体の正常な構造が保たれていることが必要であることが示唆された。核小体周縁部は AS2 ボディが存在するための足場となり、AS2 は標的遺伝子を核小体の周縁部にリクルートし、葉の発生過程において標的遺伝子の発現抑制を維持し続けることができるのではないかと考えられる (図)。

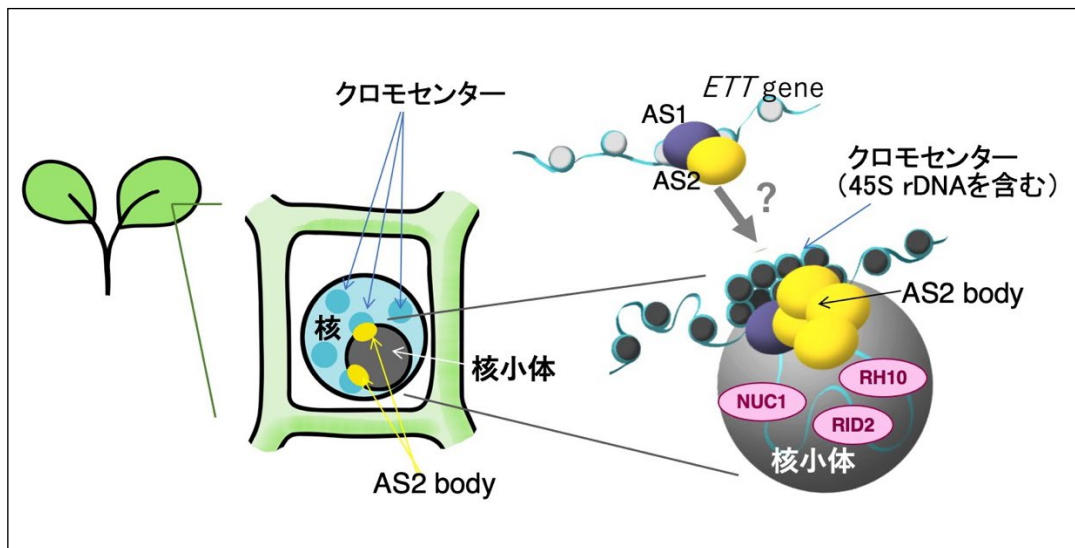


図 核小体周縁部に存在する AS2 ボディ (AS2 body) と核小体タンパク質による葉形成に関わる遺伝子の制御モデル

植物は動く事ができないために環境の変化にも耐えて巧みに生存する機能を持つと考えられている。スウェーデンで発見された世界で最も長寿と言われているオウシュウトウヒの樹齢は約 9,550 年と報告されている。動物に比べると一桁以上長寿である。シロイヌナズナを用いた研究から、*rh10* 変異体などの変異体ばかりでなく、様々なストレスによって核小体機能が低下することが知られている。*rh10* 変異体では、AS2 の機能が喪失するともはや棒状化した葉しか形成できない。言い換えると、AS2 は核小体の機能が多少低下したとしても生きられるように働く守護神かもしれない。本研究結果は、気候変動によって増大する環境変化にも強い植物の作出につながると期待される。

さらに詳しい内容は別添の資料を参照していただきたい。今回の研究成果は植物の専門誌 *Plants* に掲載した。

【用語解説】

注1 核小体

真核生物の細胞核の中に存在し、リボソーム RNA (rRNA) の転写やタンパク質合成を担う



リボソームの構築が行われる場所。直径は1~3マイクロメートル程度。

注2 茎頂メリステム

茎の先端に位置し、茎頂分裂組織ともいう。地上部のすべての器官を形成する能力を持つ幹細胞。葉は茎頂メリステムの周縁部領域の細胞から分化する。

注3 クロモセーター

DNA 染色試薬で強く染まる領域。セントロメア近傍にある巨大なヘテロクロマチン領域は密に凝集しており、DNA 染色試薬で強く染まる。このような部分をクロモセーター（染色中心）という。

【論文情報】

タイトル : *Arabidopsis ASYMMETRIC LEAVES2 and Nucleolar Factors Are Coordinately Involved in the Perinucleolar Patterning of AS2 Bodies and Leaf Development*

著者 : Sayuri Ando, Mika Nomoto, Hidekazu Iwakawa, Simon Vial-Pradel, Lilan Luo, Michiko Sasabe, Iwai Ohbayashi, Kotaro T. Yamamoto, Yasuomi Tada, Munetaka Sugiyama, Yasunori Machida, Shoko Kojima, Chiyoko Machida

掲載誌 : *plants*

URL : <https://doi.org/10.3390/plants12203621>

【お問い合わせ先】

(研究に関すること)

町田千代子 中部大学 特定教授

電話 : 0568-51-6276

E-mail : cmachida@isc.chubu.ac.jp

小島晶子 中部大学 応用生物学部 環境生物科学科 准教授

電話 : 0568-51-6298

E-mail : kojima@isc.chubu.ac.jp

(報道に関すること)

中部大学 学園広報部 広報課

電話 0568-51-7638

E-mail : cuinfo@office.chubu.ac.jp

プレスリリース詳細

植物の葉の正常な初期成長を支える核小体の役割を解明

— 環境変化に強い植物の作出に期待 —

■発表概要

□ 研究成果のポイント

核小体は真核生物の細胞の核の中にあり、膜構造をもたず、液-液相分離⁽¹⁾によって形成される核内最大の構造体である。これまでに核小体⁽²⁾は、リボソームの構築の場として知られている。本研究では、核小体の周縁部が、植物の扁平な葉の形成に必要な遺伝子抑制状態を維持するための場となっている可能性を示した。

□ 研究の背景

葉は、茎の先端の成長点にある幹細胞（茎頂メリステム⁽³⁾）から分化する地上部の主要な光合成器官である。このような光合成を担う葉器官が扁平で左右相称な形に展開することは地球環境においても大変重要である。モデル植物であるシロイヌナズナを用いた研究から、葉の発生・分化過程では、ASYMMETRIC LEAVES2 (AS2) と ASYMMETRIC LEAVES1 (AS1)⁽⁴⁾ が裏側化因子である *ETTIN/AUXIN RESPONSE FACTOR3* (*ETT*) 遺伝子の発現を抑制し維持することにより表側の細胞が分化し、その境界面で細胞分裂が起こり、扁平で左右相称な葉が形成されることが明らかになっている（図1）。

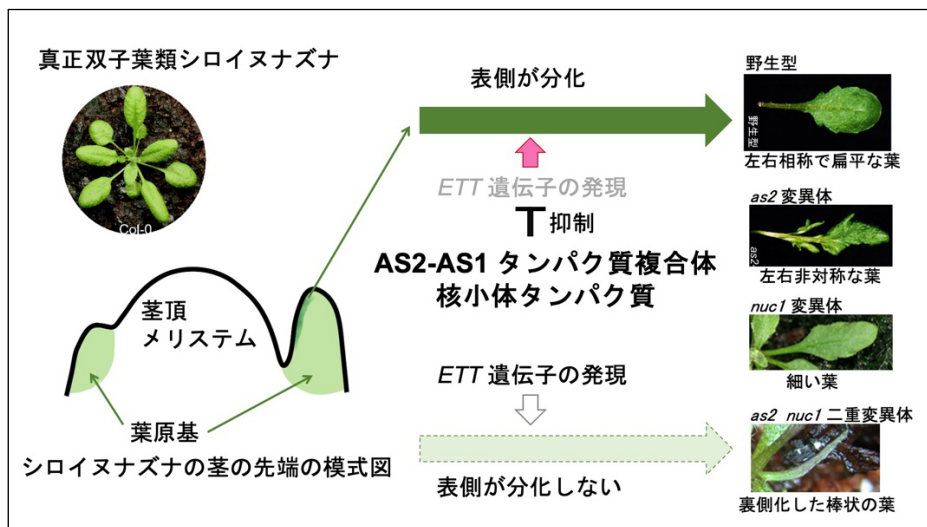


図1 真正双子葉類の左右相称で扁平な葉形成の仕組み

AS2は植物界にのみ存在するAS2/LOBドメインを持つAS2/LOBファミリーのメンバーの一

つである(図2)。AS2/LOB ドメインはジンクフィンガーモチーフ (ZF motif)、ICG sequence、LZL motif からなる特徴的な構造を持つ(図2)。ZF motif はDNA 結合に必要である。すべてのAS2 ファミリーの間で保存された ICG sequence 内のグリシンはAS2 タンパク質の高次構造に必要であることが示唆されている。AS2 は Myb ドメインを持つ転写因子である AS1 と複合体を形成し、葉の発生初期に、まず、ホメオボックス遺伝子である Class 1 KNOX 遺伝子 (*BP*, *KNAT2*, *KNAT6*) の抑制に関わる。さらに、裏側化因子である *ETT* の遺伝子上流域に結合して直接転写を抑制すること、small RNA を介して *ETT* と *ARF4* の mRNA を標的とした抑制に関わっていること、*ETT* 遺伝子の DNA メチル化の維持に関わっていることが明らかになっている。また、AS2 は *ETT* の遺伝子領域 第一エクソンの特定の DNA 配列 (CGCCGC/GCGGCG) に結合する。

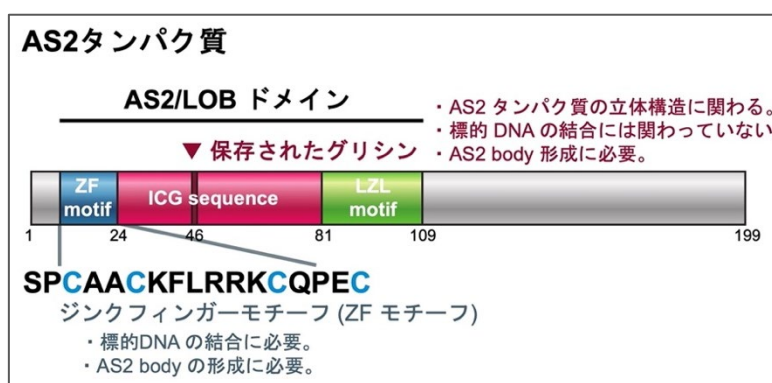


図2 AS2 タンパク質の構造と AS2/LOB ドメインの機能

AS2 は、シロイヌナズナの葉原基の表側の細胞で核質の中全体で弱く、核小体のまわりにかたまり状に2個のAS2 bodyとして存在する(図3)。AS2 body は、核小体周縁部のクロモセンター⁽⁵⁾ (45S rDNA⁽⁶⁾ リピートを含む) と部分的に共局在する。このようなAS2-AS1の機能に加えて、核小体タンパク質 NUCLEOLIN1 (NUC1)、RNA HELICASE10 (RH10)、ROOT INITIATION DEFECTIVE2 (RID2)などのリボソームの構築の機能にも関わる複数の因子が、AS2とともに葉の発生初期に表側細胞分化に関わることが報告されていた。*as2* 変異体、あるいは、*rh10* 変異体などのそれぞれの単独変異体では、葉の形が多少変化してもそれなりに展開した葉を形成するが、これらの遺伝子の変異体と *as2* 変異体の二重変異体では表側細胞が分化せず、裏側性を持つ細胞からなる棒状の葉を形成する(図1)。しかしながら、核小体タンパク質がなぜ葉の表側化に関わるのかは不明であった。

□ 本研究の成果

本研究では、核小体タンパク質 NUC1、RH10、RID2 タンパク質をコードする遺伝子の変異体において、AS2 body の局在性と形状に異常があることを見出した(図3)。*nuc1* 変異体では、クロモセンターとは共局在しない多数の小さなAS2 body が核小体周縁部内側に観察された。また、*rh10* 変異体と *rid2* 変異体においても、小さなAS2 body が核小体の周

縁部の内側に検出されるとともに、核小体の内部にも散在していることを見出した(図3)。これらの変異体では核小体内の内部構造や核質との境界面が異常になっていることが報告されている。

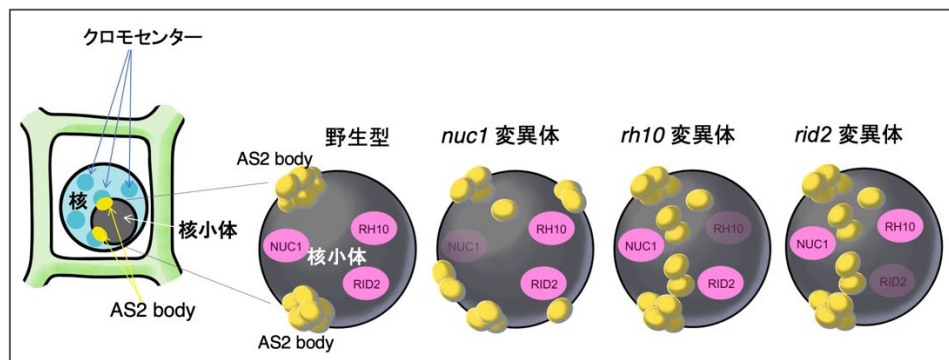


図3 核小体タンパク質をコードする遺伝子の変異体における AS2 body の局在

本研究結果から、葉の正常な初期成長には AS2 ボディが核小体の周縁部に2個のかたまりとして存在することが重要であり、AS2はAS2ボディの正しい配置を担っている、ということが明らかになった。そのためには、核小体の正常な構造が保たれていることが必要であることが示唆された。

本研究では、さらに、AS2のAS2/LOB domain内の保存されたアミノ酸に着目してそのアミノ酸配列とAS2の機能との関連性を調べた。その結果、AS2/LOBファミリーのメンバー間でよく保存されているZF motifは標的DNAへ結合するために必要であり、AS2 body形成にも必要であることが明らかになった。一方、AS2/LOBファミリーのすべてのメンバー間で保存されたICG sequence内のグリシンはAS2 bodyの形成には必要だが、標的DNAへの結合には関わっていないことがわかった。AS2が標的DNAに結合することはAS2 bodyの形成およびAS2の機能に必要なが、それだけでは不十分であり、他の因子の関与などの可能性が考えられる。今後、AS2 body形成に必要な因子について明らかにすることが必要である。

□ 今後の期待

最近、核小体の周縁部が遺伝子発現のサイレンシングの場となっていることがわかってきた。ヒト細胞の場合には核小体の周縁部には、凝縮した染色体があることが報告されている。植物細胞の場合には、核小体周縁部に局在するクロモセーター(45S rDNA⁽⁶⁾リピートを含む第4染色体の短腕が凝縮している)がある2箇所部位が特に凝縮している(図3)。核小体周縁部のクロモセーターはAS2 bodyが存在するための足場となり、AS2はAS1と共に標的遺伝子であるETT遺伝子領域を核小体の周縁部にリクルートすることによって、エピジェネティックな抑制状態を維持し続けることができるのではないかと考えられる(図4)。

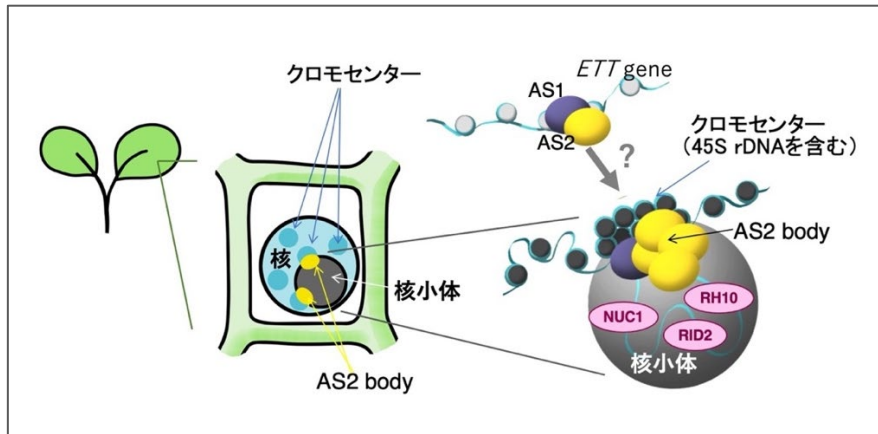


図4 核小体周縁部に局在する AS2 body と核小体タンパク質による *ETT* 遺伝子の抑制モデル

植物は動く事ができないために環境の変化にも耐えて巧みに生存する機能を持つと考えられている。シロイヌナズナを用いた研究から、*rh10* 変異体などの変異体ばかりでなく、様々なストレスによって核小体機能が低下することが知られている。*nuc1* 変異体、*rh10* 変異体、*rid2* 変異体の単独変異体では葉の形態が少し細くなる程度であるが、AS2 の機能が喪失すると、もはや棒状化した葉しか形成できない。言い換えると、AS2 は核小体の機能が多少低下したとしても生きられるように働く守護神かもしれない。本研究結果は、気候変動によって増大する環境変化に強い植物の作出につながると期待される。

■成果掲載誌

本研究成果は、2023年10月19日にMDPI社「Plants」の特集号「the Special Issue [Ribosome Heterogeneity in Plants](#)」に掲載された。

(DOI: <https://doi.org/10.3390/plants12203621>)

論文タイトル: Arabidopsis ASYMMETRIC LEAVES2 and Nucleolar Factors Are Coordinately Involved in the Perinucleolar Patterning of AS2 Bodies and Leaf Development

(シロイヌナズナの ASYMMETRIC-LEAVES2 と核小体因子は AS2 ボディの核小体周縁部の局在性と葉の発生・分化に協調的に関わる)

著者: Sayuri Ando, Mika Nomoto, Hidekazu Iwakawa, Simon Vial-Pradel, Lilan Luo, Michiko Sasabe, Iwai Ohbayashi, Kotaro T. Yamamoto, Yasuomi Tada, Munetaka Sugiyama, Yasunori Machida, Shoko Kojima * and Chiyoko Machida *

(安藤沙友里、野元美佳、岩川秀和、Simon Vial-Pradel、Lilan Luo、笹部美知子、大林祝、山本興太郎、多田安臣、杉山宗隆、町田泰則、小島晶子*、町田千代子*) *責任著者

■ 研究体制と支援

本研究は、

中部大学応用生物学部：安藤沙友里、岩川秀和、Simon Vial-Pradel、小島晶子、町田千代子

国立大学法人東海国立大学機構 名古屋大学遺伝子実験施設：野元 美佳、多田 安臣

国立大学法人東海国立大学機構 名古屋大学理学研究科：Lilan Lu、町田泰則

弘前大学・生物学科：笹部美知子

台湾国立成功大学・生命科学系：大林祝

北海道大学大学院理学研究院：山本興太郎

東京大学・大学院理学系研究科：杉山宗隆

の共同研究成果です。

学術振興会 科学研究費補助金（JP21K06218, JP20K06702, JP19K06730）

文部科学省科学 研究費補助金・新学術領域研究（JP20H05402, JP22H04709, 16H06279（PAGS））の支援を受けて行われました。

■ 問い合わせ先

<研究に関すること>

中部大学・町田千代子特定教授

E-mail: cmachida@isc.chubu.ac.jp

TEL: 0568-51-6276（直通）

ホームページ: https://www3.chubu.ac.jp/faculty/machida_chiyoko/

中部大学応用生物学部・環境生物科学科・小島晶子准教授

E-mail: kojima@isc.chubu.ac.jp

TEL: 0568-51-6298（直通）

ホームページ: https://www3.chubu.ac.jp/faculty/kojima_shoko/

中部大学応用生物学部・博士研究員・安藤沙友里

E-mail: sando@isc.chubu.ac.jp

<報道担当>

中部大学 学園広報部 広報課

Tel : 0568-51-7638

E-mail: cuinfo@office.chubu.ac.jp

■ 用語解説

- (1) 液-液相分離： 溶液が均一に混じり合わず、水と油のように二つの相に分離する現象で、分離して丸くなった集合体は液滴、またはドロレットとよばれる。
- (2) 核小体： 光学顕微鏡で明瞭に観察できる核内構造体である。rDNA が転写、プロセシングされ、リボソームタンパク質とともにリボソームの大サブユニットと小サブユニットが構築される場。液-液相分離を介して形成される構造体である。内部は、fibrillar center (FC), dense fibrillar component (DFC), granular component (GC) と、中央には VC と呼ばれるサブコンパートメントからなる。
- (3) 茎頂メリステム： 茎頂分裂組織ともいう。地上部のすべての器官を形成する能力を持った幹細胞。葉は茎頂メリステムの周縁部領域の細胞から分化する。
- (4) ASYMMETRIC LEAVES1 (AS1) : Myb ドメインを持つ転写因子。 *as1* 変異体の葉は、左右非対称な下向きカーブ（上偏成長）していることからこのような名前がついた。 *as1* 変異体と *as2* 変異体は 1960 年代に単離された変異体である。
- (5) クロモセーター： DNA 染色試薬で強く染まる領域。セントロメア近傍にある巨大なヘテロクロマチン領域は密に凝集しており、DNA 染色試薬で強く染まる。このような部分をクロモセーター（染色中心）という。
- (6) 45S rDNA (45S リボソーム DNA) : rDNA は RNA 情報を基にアミノ酸を連結したタンパク質を合成するリボソームの部品であるリボソーム RNA をコードする遺伝子。シロイヌナズナのリボソーム RNA (18S、5.8S、25S) をコードする遺伝子である 45S rDNA は、第二染色体と第四染色体の短腕のテロメア近傍に座位している。シロイヌナズナの 45S rDNA は、ハプロイドゲノムあたり約 750 コピーあり、大部分は、凝縮して不活化されている。核小体周縁部に局在しているクロモセーターに含まれる第四染色体の 45S rDNA リピートの一部が核小体内部に入り、転写されている。