



奈良先端大



新潟大学



理化学研究所

プレスリリース



国立大学法人  
東京医科歯科大学  
TOKYO MEDICAL AND DENTAL UNIVERSITY



中部大学



2023年7月8日

国立大学法人 奈良先端科学技術大学院大学  
国立大学法人 新潟大学  
国立研究開発法人 理化学研究所  
国立大学法人 東京医科歯科大学  
学校法人 中部大学  
国立研究開発法人 科学技術振興機構 (JST)

芽を生み出すかどうか、植物カルス細胞の分化を運命づける因子をつきとめた  
植物の器官再生能力を制御する新たな仕組みを発見  
～農作物の組織培養効率を飛躍的に改善する技術開発に期待～

【概要】

奈良先端科学技術大学院大学（学長：塩崎 一裕）先端科学技術研究科 バイオサイエンス領域の池内桃子特任准教授（理化学研究所環境資源科学研究センター客員研究員）と新潟大学大学院自然科学研究科の小倉 菜緒（研究当時博士前期課程；奈良先端大特別研究学生）らは、理化学研究所環境資源科学研究センターの杉本 慶子チームリーダー（東京大学大学院理学系研究科教授）、東京医科歯科大学難治疾患研究所 ゲノム機能情報分野の二階堂 愛教授（理化学研究所生命機能科学研究センターチームリーダー）、中部大学の鈴木 孝征教授らの研究グループと共同で、さまざまな器官の細胞に分化し得る多能性（注1）を持ったカルス（注2）細胞から芽を生み出す効率を劇的に向上させる新しい方法を発見しました。植物の器官再生能力を制御し細胞分化を運命づける因子（タンパク質）をつきとめ、この因子を調節することにより高効率で新たな芽を生み出す道を拓いたものです。本研究の成果を農作物に応用することで、遺伝子工学に欠かせない組織培養技術の効率を飛躍的に改善でき、食糧の安定供給に貢献することが期待できます。この研究成果は、AAAS（アメリカ科学振興協会）の学術誌「Science Advances」オンライン版に 2023年7月8日（土）（日本時間）に掲載されます（DOI：10.1126/sciadv.adg6983）。

<論文タイトル>

WUSCHEL-RELATED HOMEBOX 13 suppresses de novo shoot regeneration via cell fate control of

pluripotent callus

(WUSCHEL-RELATED HOMEBOX 13 は多能性を持ったカルス細胞の分化運命を制御することによってシュート新生を抑制している)

### 【背景と目的】

植物は体組織の一部を無菌的に培養する組織培養系を用いることで、多能性を持ったカルスを形成できます。さらに、植物ホルモンのサイトカイニンを高濃度で含むシュート（注3）誘導培養でカルスを培養すれば、カルスからシュート頂分裂組織（SAM、注4）を形成した後に、葉や茎などの器官を永続的に生み出して、最終的には植物体を再構築できます。組織培養系を用いた器官新生はバイオテクノロジーに欠かせない基盤技術ですが、重要な作物品種の中には再生能力が乏しい例も多く、技術的なボトルネックとなっています。そこで、植物の器官再生能力を制限する仕組みを理解し、再生効率の向上につながる基礎科学的成果が強く求められています。

### 【研究手法と成果】

これまでに池内特任准教授らがモデル植物シロイヌナズナを用いて器官再生の制御因子を解析する中で、傷口の組織修復と切断された器官の再接着に必要な因子（転写因子）として WUSCHEL-RELATED HOMEBOX 13 (WOX13) というタンパク質を同定していました。今回、*wox13* 機能欠損型変異体 (*wox13* 変異体、注5) では組織培養系においてシュート新生の効率が著しく向上していることを発見しました（図1）。また、野生型ではカルスの表面に形成される高度に肥大化した細胞が、*wox13* 変異体では著しく減少していることも

明らかになりました（図1）。この観察結果に基づき、WOX13 は多能性を持ったカルス細胞が、幹細胞（注6）を含む SAM になるか、肥大化細胞などの幹細胞でない細胞になるかという細胞の分化運命を制御することによって、SAM の形成を抑えているのではないかと、という仮説を立てました。

シュート誘導培地で培養されたカルスには様々な形状や大きさの細胞が含まれていますが、それらがどのような細胞なのかという知見はこれまでに得られていませんでした。そこで WOX13 がカルス細胞の分化運命を制御するという仮説を検証するために、世界最高峰の精度を誇るシングルセル RNA-seq 解析（注7）技術である「Quartz-Seq2」を初めて植物細胞に応用しました。この技術は、カルスを構成するひとつひとつの細胞で RNA の塩基配列を調べ、その量や種類を決定するものです。得られたデータに基づき細胞の種類をカタログ化した結果、カルスには 19 種類の細胞が含まれていることが明らかになりました。また、*wox13* 変異体では含まれる細胞種の割合が変化していることも判明し、仮説を裏付ける結果が得られました（図2）。

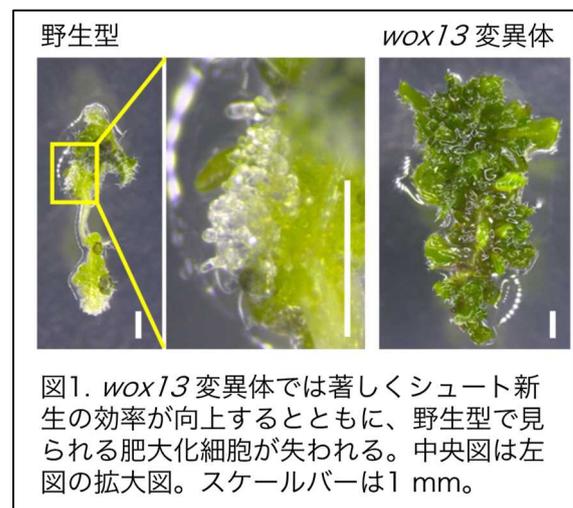


図1. *wox13* 変異体では著しくシュート新生の効率が向上するとともに、野生型で見られる肥大化細胞が失われる。中央図は左図の拡大図。スケールバーは1 mm。

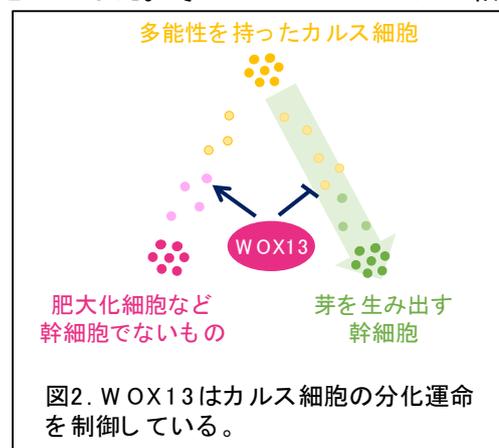


図2. WOX13はカルス細胞の分化運命を制御している。

次に、WOX13 と同じ遺伝子ファミリーに属する WUSCHEL (WUS) との関係に着目しました。WUS はカルスから SAM を生み出すのに必要であることがすでに知られていますので、WOX13 と WUS という構造が似た 2 つの因子がシュート新生に対して逆の制御をしているといえます。カルスの細胞を生きたまま観察し続け WOX13 と WUS の発現する細胞を調べたところ、それぞれの領域が徐々に分かれて、異なるテリトリーを形成していく様子も観察できました。さらに詳しく調べると WOX13 と WUS はお互いの発現を抑制し合っていることも分かり、これら因子が多能性を持ったカルス細胞の分化運命を制御していることが明らかになりました (図 3)。

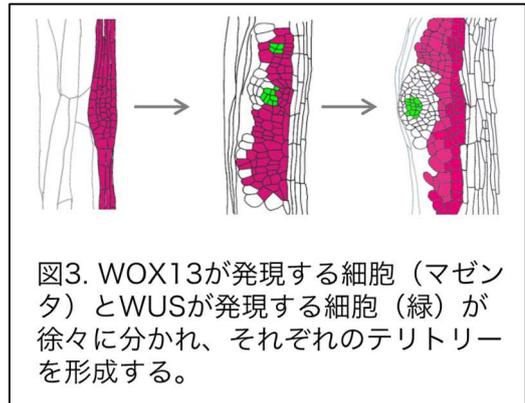


図3. WOX13が発現する細胞 (マゼンタ) とWUSが発現する細胞 (緑) が徐々に分かれ、それぞれのテリトリーを形成する。

#### 【今後の展開】

本研究では、カルスの細胞運命を制御することで器官新生の効率が劇的に変化するという新しい制御メカニズムを見出しました。WOX13 は陸上植物全般に広く保存された因子であり、今回モデル植物を用いて見出されたものと同様の制御メカニズムが農作物でも働いている可能性が高いといえます。したがって、カルスからの器官新生がうまくいかない作物品種で *WOX13* の機能欠損型変異体を作出すれば効率的にシュート新生が起こるようになるかもしれません。今後は、WOX13 が細胞の分化運命を制御する詳細な機構を明らかにするとともに、カルスに含まれるさまざまな細胞が果たす役割も明らかにしていきたいと考えています。

#### 【謝辞】

本研究は、科学技術振興機構 (JST) 創発的研究支援事業 (JPMJFR214H)、日本学術振興会 (JSPS) 新学術領域研究「植物の周期と変調」(19H05670、20H05431、22H04713)、新学術領域研究「植物多能性幹細胞」(20H04894)、若手研究 B (17K15146)、内藤記念次世代育成支援研究助成金、武田科学振興財団ライフサイエンス研究助成などの支援を受けて行われました。

#### 【用語解説】

- 注 1 多能性：さまざまな器官になることができる潜在的な能力のこと。
- 注 2 カルス：器官の切断やホルモン処理などの刺激に応答して形成される細胞の塊のこと。
- 注 3 シュート：茎や葉など、植物の地上部にできる器官系のこと。若いシュートのことを一般的に芽と呼ぶ。
- 注 4 SAM (シュート頂分裂組織)：茎の先端にあり幹細胞を含む分裂組織のこと。
- 注 5 機能欠損型変異体：特定の遺伝子の機能が損なわれた系統のこと。
- 注 6 幹細胞：分裂して自己を複製するとともに分化細胞を生み出す性質を持った細胞のこと。
- 注 7 シングルセル RNA-seq 解析：ひとつひとつの細胞において発現している遺伝子群を網羅的に調べること。

【お問い合わせ先】

<研究に関すること>

奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科 バイオサイエンス領域 植物再生学研究室  
特任准教授 池内桃子

TEL : 0743-72-5520 E-mail : momoko.ikeuchi[at]bs.naist.jp

研究室紹介ホームページ : <https://bsw3.naist.jp/ikeuchi/>

<JST 事業に関すること>

科学技術振興機構 創発的研究推進部

中神雄一

TEL : 03-5214-7276 FAX : 03-6268-9413 E-mail : souhatsu-inquiry[at]jst.go.jp

<報道に関すること>

奈良先端科学技術大学院大学 企画総務課 渉外企画係

TEL : 0743-72-5026/5063 FAX : 0743-72-5011 E-mail : s-kikaku[at]ad.naist.jp

新潟大学 広報事務室

TEL : 025-262-7000 E-mail : pr-office[at]adm.niigata-u.ac.jp

理化学研究所 広報室 報道担当

TEL : 050-3495-0247 E-mail : ex-press[at]ml.riken.jp

東京医科歯科大学 総務部 総務秘書課 広報係

TEL : 03-5803-5833 FAX : 03-5803-0272 E-mail : kouhou.adm[at]tmd.ac.jp

中部大学 学園広報部 広報課

TEL : 0568-51-7638 (直通) E-mail : cuinfo[at]office.chubu.ac.jp

科学技術振興機構 広報課

TEL : 03-5214-8404 FAX : 03-5214-8432 E-mail : jstkoho[at]jst.go.jp