

# 植物発生における細胞間シグナリング

京都大学大学院理学研究科 教授 岡田 清孝

## 1 研究実施の概要

植物の成長や形態を調節し、必要に応じて改変する方法を確保しておくことを目的として、植物器官形成における細胞分化に関わる細胞間のシグナル伝達機構と雄性と雌性の配偶体の形成と相互認識における細胞間のシグナル伝達機構について、分子生物学、分子遺伝学、生化学、および細胞学的な解析をおこなった。研究開始当初の研究対象は、(a) 葉の表（向軸側）と裏（背軸側）の区別や左右の対称性など側生器官の基本的な構造を決定する細胞間シグナル機構について制御遺伝子を同定し、その働きをあきらかにすること（京都大学理学研究科の岡田グループと中部大学応用生物学部の町田グループが担当）、(b) 器官の形成とともになう細胞の分化過程を制御する細胞間シグナル機構について制御遺伝子を同定し、その働きをあきらかにすること（中部大学応用生物学部の町田グループとワシントン大学鳥居グループが担当）、(c) 受精における雌雄配偶体の間のシグナルを同定し機能を調べる実験系を開発すること（東京大学理学系研究科の東山グループが担当）の3つとした。平成16年度からは、分子遺伝学および分子生物学を中心とした研究に加えて、新たに生化学およびシステム生物学の手法を新たに導入して、新規な研究分野を立ち上げることとし、(d) 茎頂分裂組織におけるペプチドリガンドの網羅的解析（京都大学理学研究科の岡田グループ担当）と(e) 植物体内外における物質移動の様相を観察するバイオイメージング系の開発（東京大学農学系研究科の中西グループ担当）を開始した。

(a) 葉の表（向軸側）と裏（背軸側）の区別や左右の対称性など側生器官の基本的な構造を決定する細胞間シグナル機構については、(1) 裏側領域で特異的に発現する FILAMENTOUS FLOWER (FIL) 遺伝子のプロモーター領域を解析し、FIL 遺伝子が側生器官原基の裏側領域で発現するために、二つのシス領域が必要かつ十分であることを明らかにした（岡田グループ）。-1742 から -1547 塩基までの約 200 塩基対の領域が裏側と表側の両方の領域で発現を誘導し、-1748 から -1737 の 12 塩基対が表側の領域で発現を抑制する。この両者が存在すると、裏側のみで発現することになる。(2) PHABULOSA (PHB) 遺伝子は表側領域で特異的に発現する。PHB 遺伝子のプロモーターをマーカー遺伝子とつないで発現領域を調べると、裏側領域特異的な FIL 遺伝子の発現領域と一部で重複することがわかった。しかし、PHB 遺伝子はマイクロ RNA165/166 の標的遺伝子であり、これらのマイクロ RNA が存在する細胞内では、PHB 遺伝子の mRNA が翻訳されないことから、マイクロ RNA165/166 の発現する領域を調べた。その結果、マイクロ RNA165/166 は、PHB 遺伝子の発現領域が裏側に特異的な FIL 遺伝子の発現領域と重複しないように限定する働きを持つことがわかった。この結果は、マイクロ RNA が遺伝子の発現領域を厳密に調整していることを示す最初の例である（岡田グループ）。また、(3) マイクロ RNA165/166 が関与して表側領域と裏側領域の境界を決定するプロセスは、葉原基のごく初期に見られること、胚形成の中期球状胚の段階から子葉となる領域で見られることを示した。さらに、(4) 維管束中の道管および師管細胞の連続したネットワークの形成に以上を持つ突然変異体を多数分離して解析を進めた。前駆細胞群であるプレ前形成層・前形成層の形成に必要であり、オーキシンの極性輸送システムの保持に関わる遺伝子を見出した（岡田グループ）。一方、町田グループは、(5) 葉の左右相称的形成を支配する AS1 と AS2 遺伝子の機能と発現パターンを解析した。AS1 遺伝子と AS2 遺伝子はその機能欠損株が極めて類似した表現型をもつにもかかわらず、mRNA の蓄積パターンや細胞内局在は必ずしも一致しないが、葉の初期の原基細胞や葉の原基の中央部では AS1 と AS2 が共同して機能していることを

示した。さらにオーキシン応答遺伝子 *ETT/ARF3* と *ARF4* の蓄積を誘導し, class 1 *KNOX* 遺伝子の発現を抑制すること, 核小体に局在する新規因子や tasi-RNA の生成に関わる RDR6 が *as1* と *as2* の変異の表現型を亢進すること, を示した。これらの結果は, 葉の左右相称的形成にクロマチンの構造変換が重要であることを示したもので, 今後の研究展開が注目される。

(b) 器官の形成にともなう細胞の分化過程を制御する細胞間シグナル機構については, 町田グループと鳥居グループが植物器官の表皮細胞の分化について詳細な解析をおこなった。(1) 表皮細胞を覆うクチクラは水分の喪失を防ぎ, カビや細菌の感染から細胞を防御している。町田グループは, トライジンブルーで植物体を染色する簡便な方法を考案して, 多数のクチクラ形成異常突然変異体を単離した。クチクラの合成・分泌に直接関わると推察される遺伝子の他に, 受容体型プロテインキナーゼ遺伝子 *ACR4* や *ALE2*, ズブチリシン様推定セリンプロテアーゼ遺伝子 *ALE1* の変異体が得られたことから, ペプチド性リガンドとそれを受容する受容体キナーゼが関与する細胞間シグナリング経路が表皮特異的遺伝子発現に関与しており, それによって地上部の器官形成を促進しているモデルを提唱した。(2) 鳥居グループは, シグナル受容体キナーゼである *ERECTA* が器官の伸長を制御していることを示した。また, *erecta* 突然変異体の抑制変異体 *suppressor of erecta1-D* (*super1-D*) を単離し, この突然変異体はオーキシン合成酵素遺伝子 *YUCCA5* が過剰発現したものであることから, *ERECTA* 受容体キナーゼを介したシグナル伝達経路とオーキシンを介した経路は, 共に器官伸張を促進し, どちらかが欠損してももう一方の経路を過剰に活性化することにより, 植物の正常な器官伸張が起こることを示した。さらに, *ERECTA* と相乗的に作用する 2 つの受容体 *ERECTA-LIKE1* (*ERL1*) と *ERL2* を見出し, *ERECTA* と機能的に相同的な受容体キナーゼであること, *erecta/erl1/erl2* 三重変異体が極端な矮性と花器官の発生異常を示したことから, 3 つの受容体キナーゼは細胞分裂を協調的に促進させる機能を持つと考察した。また, *ERECTA* と *ERL1* と *ERL2* の *ERECTA* ファミリー受容体キナーゼは, 気孔の分化とパターン形成を制御すること, すなわち, 原表皮細胞の非対称分裂を抑制するとともに *ERL1* と *ERL2* は気孔の前駆細胞 (メリステモイド細胞) の孔辺母細胞への分化の抑制することを明らかにした。

(c) 受精における雌雄配偶体の間のシグナルの解析は, 東山グループが担当した。東山グループは, 雌性配偶体が珠皮から露出しているトレニアを用いて花粉管伸長と受精を顕微鏡下で観察できるユニークな *in vitro* 系を独自に開発し, この系を用いて, 雌性配偶体が花粉管ガイダンス物質を分泌することを示した。また, レーザー細胞除去実験により花粉管ガイダンス物質が卵細胞の隣にある 2 つの助細胞から分泌されることを証明した。さらに, 近縁のトレニア属異種やアゼトウガラシ属を用いることで, 花粉管ガイダンス分子には強い種の特異性が存在することを示した。次いで, 助細胞の cDNA ライブラリーを作製し, Low-molecular-weight Cysteine-rich Protein (LCR) ファミリーの遺伝子が助細胞で特異的に発現していることを示し, このタンパク質が花粉管ガイダンス物質の有力な候補であることを明らかにした。さらに, 助細胞を取り囲む胚珠の  $2n$  組織から, 花粉管に作用してガイダンス分子に対する応答能力を付与するタンパク質 AMOR が分泌されることを証明した。

(d) 茎頂分裂組織におけるペプチドリガンドの網羅的解析は, 本研究における新規な試みとして平成 16 年度より岡田グループが担当した。分裂組織周辺に存在するペプチド性シグナル分子を網羅的に同定するために, 二つの系を開発した。その一つは, 若い花序と花芽の巨大な塊

であるカリフラワーの花蕾から表層組織を集め、細胞間隙に存在するタンパク質を抽出する方法である。二次元電気泳動法で低分子タンパク質を検出して LC-MS/MS によって部分的なアミノ酸配列を決定して、44 個のタンパク質を同定した。さらに、シロイヌナズナのカリフラワー様突然変異体の花蕾から同様に細胞間隙に存在するペプチドを単離して、ゲルfiltrationにより分画し、LC-MS/MS によってアミノ酸配列を調べ、シロイヌナズナのゲノムデータベースと照らし合わせてペプチドの前駆体タンパク質と遺伝子を推定した（ショットガン解析）。1299 個のペプチドを同定し、その中から細胞外分泌性のシグナルペプチド配列を持つものを 24 種同定した。また、細胞外に分泌されるペプチドのプロセッシングを触媒するプロテアーゼ（subtilase）を 8 種類同定した。第二の系は、生理活性を有するペプチドを探索するための生物検定法の開発である。分画したペプチドを加えた培地の中でシロイヌナズナを発芽させ、数日間栽培した後、茎頂分裂組織や根端分裂組織、葉や根の形状を観察した。カリフラワーの花蕾の表層から得た分子量 500–3000 Da のペプチド画分を投与すると、本葉の発生・主根の伸長・側根の発生に異常が認められるなど、活性を持つ新規なペプチドの存在が認められた。これらの活性を持つペプチドの同定と機能解析は、本研究の期間内に終えることが難しいので継続することが望ましい。

(e) 植物体における物質移動のバイオイメージング装置の開発は中西グループが担当した。中西グループは、放射性同位体元素で標識した物質を植物に与え、生じた放射線をシンチレータにより光に変換後、超高感度カメラを用いることで、2 次元の位置情報を保持したままリアルタイムに解析可能なリアルタイムトレーサー装置として、組織間の物質動態を解析可能なマクロイメージング装置と組織内での細胞間の物質動態解析を目的としたミクロイメージング装置の開発を行った。現在最も感度が高く解像度も良好と評価されている IP と比較して単位時間当たりの検出感度が 10 倍以上となり、リアルタイムで動画としてとらえることができる装置を作製した。マクロイメージングの装置（10 cm×20 cm, 解像度 500 μm）を用いて、大豆幼植物のリン酸欠乏時およびリン酸供給時のリン酸の詳細な挙動を解析した。ミクロイメージング装置では、シンチレータ観察用の対物レンズを新たに作製し、ファイバープレートなどを使用することにより、細胞一層の組織切片であってもラジオアイソotope の分布をほぼ細胞レベルで検出可能となった。

## 2 研究構想及び実施体制

### (1) 研究構想

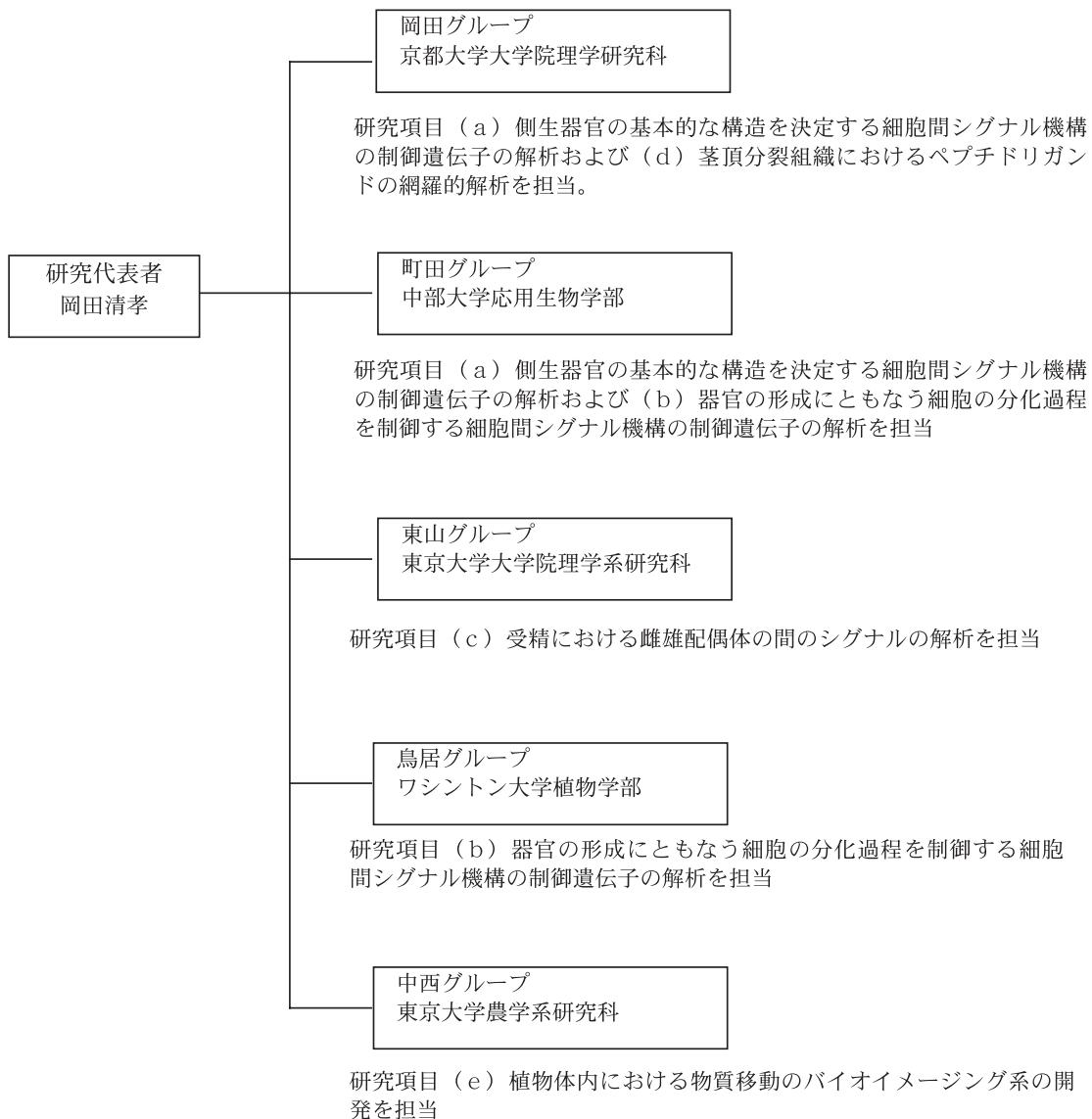
地球規模の食糧問題や環境問題は、わずか数十年後に顕在化することが予測されており、この問題に対処するためには、植物の成長や形態を調節し、必要に応じて改変する方法を確保しておくことが必要である。形態や養分の転流・貯蔵のシステムが大きく異なるカリフラワー、白菜、ダイコンなどはいずれもアブラナ科の近縁な植物であることはよく知られているが、これらの形態の違いは、花序分裂組織の分岐、腋芽分裂組織の成長、葉の伸張と展開、根端部の細胞増殖と成長などの基本的な制御システムの差に依存していると考えられている。植物の形態と細胞機能の大幅な可塑性を司る遺伝的な制御機構を解明することによって、人工的な改変手法の基盤を得ることができる。また、育種学の主要な成果の一つとしてハイブリッド植物など近縁種間や亜種間雑種が作成されているが、雄性配偶体および雌性配偶体の形成異常突然変異体や受精過程を支配する機構の解析から得られる知見は、有用植物の育種の基礎として応用できると期待される。植物の個体および器官の形成や受精に到る過程において「細胞間のシグ

ナル伝達機構が重要な役割を担っている」ことは認識されているものの、シグナルの分子的実体や受容・伝達の分子機構については、ほとんど解明されていない。本研究では、(1) 植物器官形成における細胞分化に関わる細胞間のシグナル伝達機構と(2) 雄性と雌性の配偶体の形成と相互認識における細胞間のシグナル伝達機構、について、分子生物学、分子遺伝学、生化学、および細胞学的な解析をおこなって、分子機構を解明し、人工的に制御する方法を見いだすことを目的とした。

研究開始当初の研究対象は、(a) 葉の表（向軸側）と裏（背軸側）の区別や左右の対称性など側生器官の基本的な構造を決定する細胞間シグナル機構について制御遺伝子を同定し、その働きをあきらかにすること（京都大学理学研究科の岡田グループと中部大学応用生物学部の町田グループが担当）、(b) 器官の形成にともなう細胞の分化過程を制御する細胞間シグナル機構について制御遺伝子を同定し、その働きをあきらかにすること（中部大学応用生物学部の町田グループとワシントン大学鳥居グループが担当）、(c) 受精における雌雄配偶体の間のシグナルを同定し機能を調べる実験系を開発すること（東京大学理学系研究科の東山グループが担当）の3つとした。平成16年度からは、分子遺伝学および分子生物学を中心とした研究に加えて、新たに生化学およびシステム生物学の手法を新たに導入して、新規な研究分野を立ち上げることとし、(d) 茎頂分裂組織におけるペプチドリガンドの網羅的解析を始めた（京都大学理学研究科の岡田グループ担当）。また、細胞間を移動する物質をリアルタイムで観察する実験系を導入する必要性を認識して平成16年度から(e) 植物体における物質移動の様相を観察するバイオイメージング系の開発を開始した（東京大学農学系研究科の中西グループ担当）。

これらの研究グループは、領域シンポジウムや関連学会（植物学会、植物生理学会、植物細胞分子生物学会、分子生物学会、遺伝学会など）の年会やシンポジウムなどの機会を捉えて、情報を交換し、研究の進め方について議論した。その結果、以下に示すような研究成果を得た。

## (2) 実施体制



### 3 研究実施内容及び成果

#### 3.1 (a) 側生器官の基本的な構造を決定する細胞間シグナル機構の制御遺伝子の解析

栄養成長期における植物は、茎頂分裂組織の周辺領域に葉原基を形成する。葉原基が形成される位置には規則性があり、新たに葉原基が形成される位置は、分裂組織の中央領域と既に形成された葉原基の位置によって規定されていると考えられている。葉原基は成長するにともなって、維管束のネットワークを形成し、横方向に平らに展開して裏と表の組織に分化する。これらの過程においては、葉原基が分裂組織との間の相対的な位置を認識していると考えられる。葉原基の成長にともなって葉脈のネットワークが形成される。花器官（がく片、花弁、雄しべ、心皮）の形成される位置や対称構造についても同様である。本研究では、モデル植物であるシロイヌナズナを用いて、葉や花器官の表・裏や、周縁部など領域決定、葉の左右相称性や器官のサイズと表皮組織のパターン形成を制御する遺伝機構を解析した。

##### 3.1.1 (岡田グループ 京都大学理学研究科)

###### (1) 研究実施内容及び成果

###### 1. 葉など側生器官の表側（向軸側）と裏側（背軸側）の領域決定の機構について。

葉や花器官など側生器官には、先端と基部・中央部と周縁部・表と裏の3つの軸があり、これらの軸に沿って器官の原基が成長し、組織が分化する（図1a）。表と裏の区別は茎頂分裂組織に近い側と遠い側になる（図1b）。

側生器官の表側および裏側の領域が決定される機構を解析するために、表側および裏側領域で特異的に発現する遺伝子が知られている。岡田グループでは、本研究開始以前から、裏側領域で発現し、裏側領域の組織分化を支配する FILAMENTOUS FLOWER (FIL) 遺伝子を単離して機能を調べていた (Sawa *et al.* Genes & Development 13, 1079, 1999)。この遺伝子の突然変異体は、主に花芽分裂組織と花器官の形成と成長に異常を示す。FIL タンパク質は、C 末端側に HMG ドメイン、N 末端側に二つの zinc-finger ドメインを持つ。In situ ハイブリダイゼーション

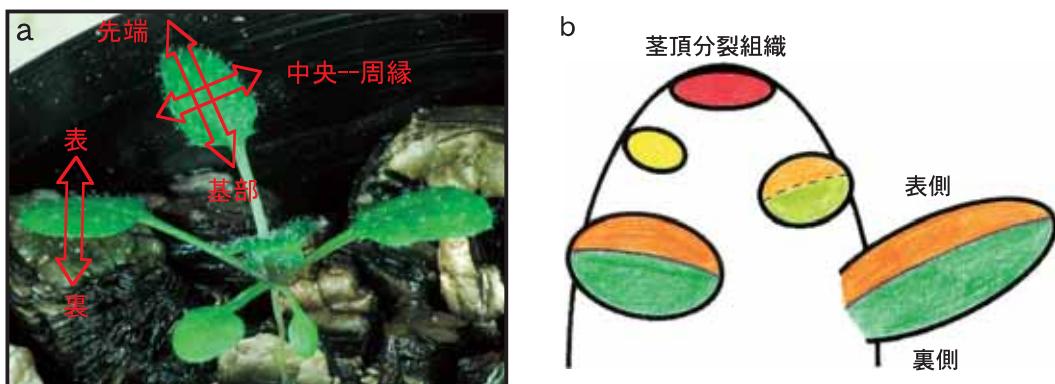


図1 a：葉は、先端と基部・中央部と周縁部・表と裏の3つの軸に沿って成長し組織が分化する。b：表と裏の区別は茎頂分裂組織に近い側と遠い側になる。

ン法および promoter::GFP トランスジェニック・シロイヌナズナの解析から、FIL 遺伝子は側生器官（子葉、葉、花器官）の裏側（abaxial side）で発現することがわかった。

1. 本研究開始後にはまず、裏側領域で特異的に発現する機構を知るために、FIL 遺伝子の Promoter 領域を解析して特異的発現をうながすシス領域を特定した (Watanabe *et al.* 2003)。

Promoter 領域の一部を欠失したり特定の塩基配列を置換するなどの変異を入れたり、領域の一部を重複して配列するなどの操作をおこなって、発現パターンを解析し、FIL 遺伝子が側生器官原基の裏側領域で発現することを保証するために、二つのシス領域が必要かつ十分であることを明らかにした。すなわち、-1742 から -1547 塩基までの約 200 塩基対の領域が裏側と表側の両方の領域で発現を誘導し、-1748 から -1737 の 12 塩基対が表側の領域で発現を抑制している。したがって、両方の領域が存在すると、裏側の領域のみで FIL 遺伝子が発現することになると考えられる（図 2）。

ついで、裏側領域と表側領域は明確な境界を持つのか、その境界は一意的に決まるのか否かについて解析した。

そのために、裏側領域に特異的に発現する FIL 遺伝子と表側組織に特異的に発現する PHABULOSA (PHB) 遺伝子のプロモーターに GFP または YFP をつなぎ、発現領域が重複するか否かを検討した。両遺伝子の発現領域は葉原基や若い葉の中央部では重複しないが、周

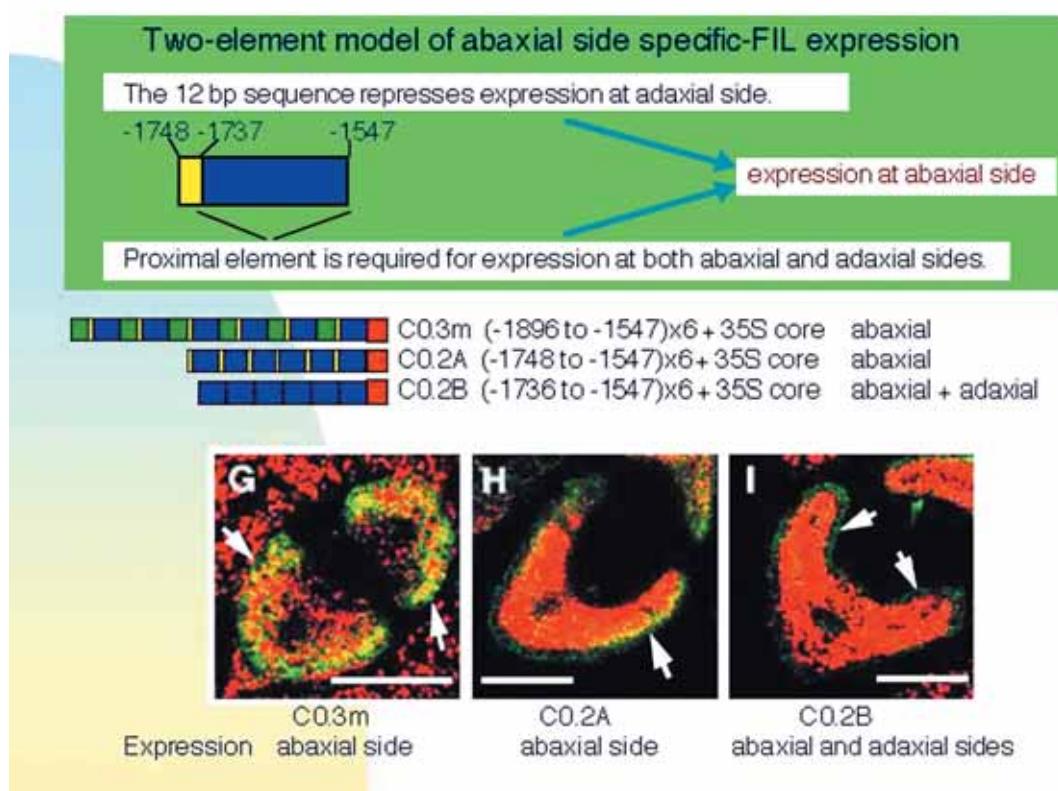


図 2 FIL 遺伝子プロモーター領域の -1748 から -1547 の領域を 6 個繰り返して 35S 最小プロモーターに繋ぎ、その下流に GFP 遺伝子を付けてシロイヌナズナに導入する (C0.3m および C0.2A) と GFP は葉原基の外側の組織で発現する (矢印で示す) が、-1748- から -1737 の 12 塩基対領域を取り除いてシロイヌナズナに導入すると (C0.2B) と GFP は葉原基の外側だけでなく内側の組織でも発現する (矢印で示す)。GFP の発現領域は緑および黄色になる。赤色は葉緑体の自家蛍光である。

縁部領域で重複して発現する結果が得られた。この領域は、葉の周縁部の細胞列形成に必要なPRESSED FLOWER (PRS) 遺伝子の発現領域と一致していた（図3）。

しかしながら、この実験結果から表側領域と裏側領域が一部重複することを結論づけることは、問題があることがわかった。すなわち、植物体内に21–22塩基の短いRNA分子（マイクロRNA）が存在し、マイクロRNAは特定の遺伝子のmRNAの分解を誘導して遺伝子発現を調節することが知られるようになったためである。マイクロRNAと相補的な配列を持つmRNAと部分的な二本鎖RNAを形成することによってmRNAの分解を誘導する。我々が表側領域特異的遺伝子として用いたPHB遺伝子がマイクロRNA165/166の標的遺伝子であることが報告されたので、上記のようなプロモーターにマーカー遺伝子をつないで発現領域を解析する方法では、発現パターンを正しく反映していない可能性が高くなつた。

そこで、GFP遺伝子の内部に蛍光活性は維持できるようにしてマイクロRNA165/166と相補的な配列を組み込み、この遺伝子を植物体のほぼすべての組織で強く発現する35Sプロモーターにつないでシロイヌナズナに導入した（図4上）。もし、葉の一部でマイクロRNA165/166が活性を持つとすれば、この領域の細胞内では、改良したGFP遺伝子のmRNAは分断され、GFPタンパク質は翻訳されず、蛍光は見られない。しかし、マイクロRNA165/166が働く領域では蛍光が観察されることになる（図4下）。表側領域で特異的に発現するPHB、PHV、REV遺伝子はいずれもマイクロRNA165/166の認識切断配列を持つので、このように改良したGFP遺伝子が蛍光を発する領域は、PHB、PHV、REV遺伝子が発現し、タンパク質が翻訳される領域を示すことになる。

このような工夫をしたシロイヌナズナを観察したところ、表側領域と維管束部分でGFP蛍光が観察された（図5左）。その領域は、PHB遺伝子のプロモーターによって発現が誘導される領域（図5中）とは異なり、境界が明確であった。さらに、裏側領域特異的なFIL遺伝子の発現領域と比較すると、両方の領域はまったく重複しないことがわかった（図5右）。この結果は、PHB、PHV、REV遺伝子が機能する領域の境界を決定する上で、マイクロRNA165/166が重要な役割を持つことを示しており、マイクロRNAが遺伝子の発現領域を厳密に調整していることを示す最初の例である。

また、このトランスジェニック・シロイヌナズナの茎頂分裂組織を調べ、葉原基が盛り上が

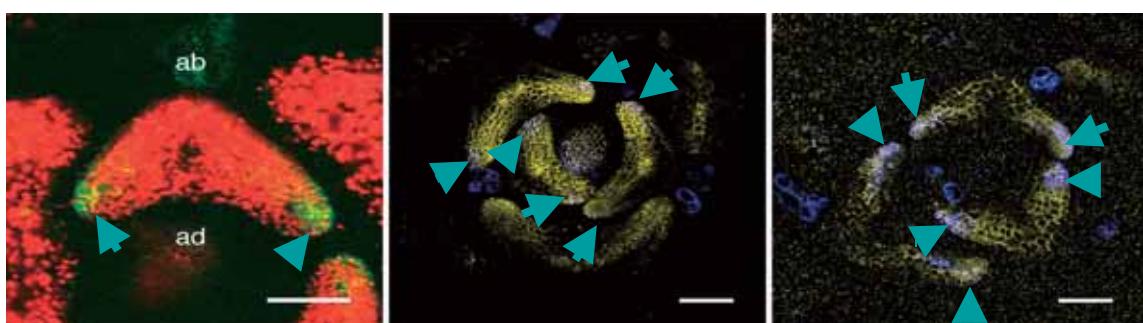


図3 若い葉の横断切片を示す。左図はPRSpromoter::GFPを持つトランスジェニック・シロイヌナズナ。緑色の部分はGFPの蛍光、赤色部分は葉緑体の自家蛍光を示す。PRS遺伝子は葉の周縁部の数細胞でのみ発現することがわかる。中央図はPRSpromoter::GFPとPHBpromoter::YFPの二重トランスジェニック植物。GFPの発現領域は青色、YFPの発現領域は黄色、両者が共に発現している領域は白色となる。PHB遺伝子は葉の表側領域で発現しており、PRS遺伝子の発現領域と重なっている。右図はPRSpromoter::GFPとFILpromoter::YFPの二重トランスジェニック植物。GFPの発現領域は青色、YFPの発現領域は黄色、両者が共に発現している領域は白色となる。

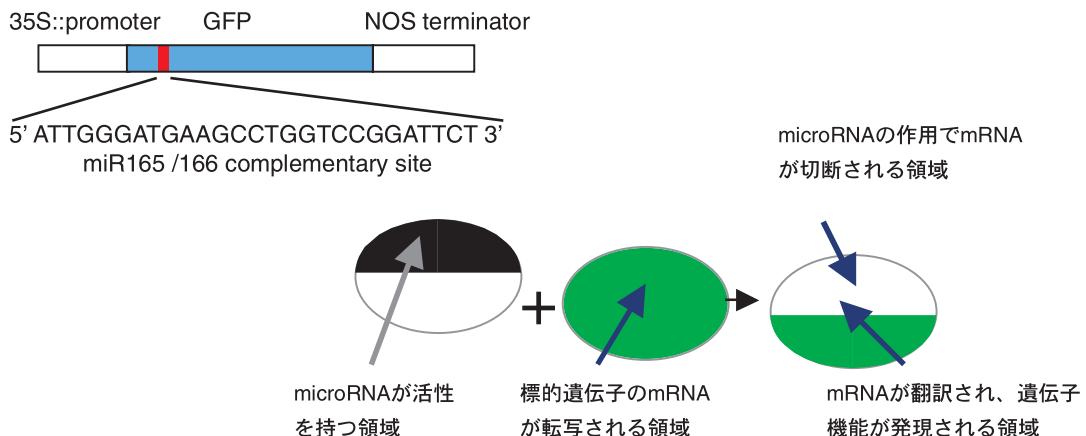


図4 micro RNA が作用する領域を調べる実験デザイン。上図：GFP 遺伝子（青色部分）の内部に蛍光活性は維持できるようにしてマイクロ RNA165/166 と相補的な配列（赤色部分）を組み込み、35S プロモーターと nos ターミネーター配列につないでシロイヌナズナに導入した。下図：マイクロ RNA が葉の上半分（左図 黒色部分）で活性を持つ場合、葉の全域で a に示すような改良型遺伝子を発現させると、葉の上半分ではマイクロ RNA の働きで mRNA が分断されるために翻訳されないが、葉の下半分では mRNA は翻訳される。

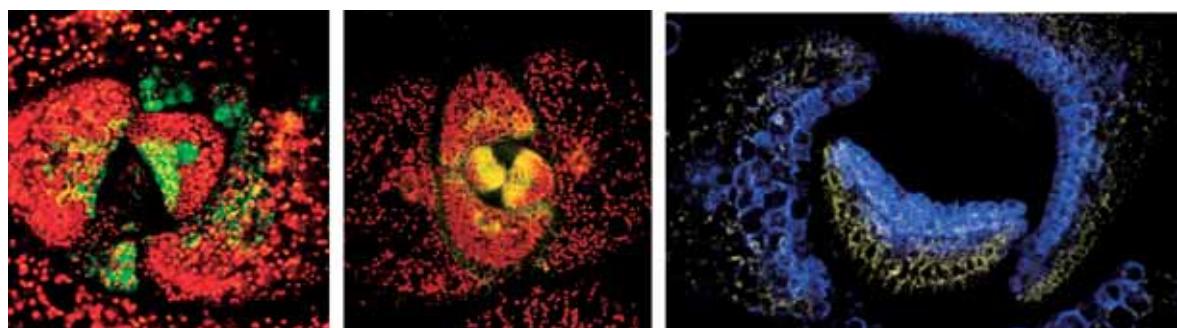


図5 マイクロ RNA165/166 の作用する領域。左：35S プロモーターにマイクロ RNA165/166 の認識切断配列を持つ GFP 遺伝子をつないでシロイヌナズナに導入した。若い葉の横断面を示す。緑色が GFP の蛍光を、赤色は葉緑体の自家蛍光を示す。中：PHB 遺伝子のプロモーターに YFP 遺伝子をつなぎ、シロイヌナズナに導入した。黄色は YFP の蛍光を、赤色は葉緑体の自家蛍光を示す。右：35S プロモーターにマイクロ RNA165/166 の認識切断配列を持つ GFP 遺伝子をつないでシロイヌナズナに導入した植物と、FIL 遺伝子のプロモーターに YFP 遺伝子をつなぎシロイヌナズナに導入した植物を掛け合わせて、二重トランスジェニック植物を作製した。青色が GFP の蛍光、黄色が YFP の蛍光を示す。青色部分と黄色部分は重複していない。

る前の段階で既に PHB と FIL 遺伝子の発現領域が表側と裏側に明確に分かれていること、この段階で既にマイクロ RNA165/166 が機能していること、が明らかになった。さらに、胚形成においても、中期球状胚の段階からマイクロ RNA165/166 が機能して、PHB の発現領域を規定しており、子葉の表裏の領域の決定に関わっていることがわかった。

これらの解析には、本研究費によって購入した共焦点レーザー顕微鏡の高い解像能力が大き助けとなった。

さらに、表裏の領域の境界を規定し、領域のサイズを決める機構を知るために、FIL 遺伝子の発現領域が変化した突然変異体を多数分離して、代表的な突然変異体について変異形質を調べ、変異遺伝子のクローニングを試みた。FIL 遺伝子のプロモーターに GFP をつないでシロイヌナズナに導入し、この植物の種子 4 万粒を EMS で処理して突然変異体を誘導した。約 1 万 5 千の芽ばえを蛍光実体顕微鏡で調べ、表側でも FIL 遺伝子の発現がみられるもの（18 株）

と蛍光の強度が下がったもの（236 株）を得た。そのうちで、変異が安定して興味深いものを選んで解析している。2.0-07 株では FIL 遺伝子は裏側領域で発現するが、発現領域が表側に張り出して広がっている。また、1-63 株では、FIL 遺伝子の発現領域が広がっている葉や逆に縮小している葉があり、極端な場合には、葉身が展開せず針状葉を形成する。これらの変異遺伝子は、表裏の領域の決定機構に関わると考えられる。

## 2. 葉など側生器官の周縁部の細胞列形成の機構について

葉や花器官の中央部と周縁部の領域決定の機構を調べるために、葉や花器官の周縁部に存在する特殊な周縁部細胞列の形成に必要な PRESSED FLOWER (PRS) 遺伝子の発現領域と特異的発現の機構を検討した。

*pressed flower* (prs) 突然変異体では、lateral の位置にある 2 枚のがく片が欠失または未発達になる。PRS タンパク質はホメオボックスと Gln-rich および His-rich 領域を持つ。岡田グループでは、既に PRS 遺伝子は花芽分裂組織と各花器官原基の横 (lateral) の端に位置する数個の細胞でのみ発現していることを示した (Matsumoto & Okada: *Genes & Development* 15, 3355, 2001)。本研究において、Promoter 領域に様々な欠失変異を導入して発現領域を詳細に調べ、少なくとも 4 個のシス領域が関わっていることを明らかにした。特に重要な領域は -700 から -840 塩基に相当する領域で、この領域内に葉の周縁領域特異的な発現を促すシス配列が含まれることがわかった (図 6)。また、PRS 遺伝子の発現領域は FIL 遺伝子の発現領域と重複するが、PHB 遺伝子の発現領域とは重複しないことがわかった。この結果は、PRS 遺伝子が発現し、この遺伝子によって分化する周縁部の細胞列は裏側に属することを示している。

## 3. 維管束ネットワークのパターン形成の機構について

維管束中の道管および師管細胞は連続していなければ機能できない。道管および師管のパターンが掲載される際には、一続きの管として機能するように細胞間のシグナルが働いていると思われる。維管束パターンが異常になる変異体数十種類を分離し、葉脈が繋がらないものや、道管になる細胞が塊を作るものなどを選んで解析を進めた。その中の一つである no vein 突然変異体は、葉脈がほとんどできない突然変異体として単離された (図 7)。NO VEIN 遺伝子は、分子量約 306 kD の新規タンパク質をコードしており、維管束細胞の前駆細胞群であるプレ前形成層・前形成層の形成に必要であり、オーキシンの極性輸送システムの保持に関わると予想された。

### (2) 研究成果の今後期待される効果

これらの一連の研究から、側生器官の発生のごく初期に表裏の領域が決定されていること、領域特異的な遺伝子発現とそれによる領域特異的な組織分化にマイクロ RNA が関与していることが明確になった。今後は、マイクロ RNA の発現の時間・空間的な制御はどうなっているのか、他の領域特異的な遺伝子の発現の制御ネットワークとの関わりはどうか、などの点について研究が進むと思われる。FIL 遺伝子の発現領域が変化した突然変異体から変異遺伝子をクローニングすることによって、葉の領域および境界決定の機構が明らかになるだろう。また、周縁部に特異的な遺伝子発現に必要なシス領域が明らかになり、維管束のネットワークに関わる遺伝子も解析が進んでおり、葉や花の構造を大きく変化させる技術が進展することと期待さ

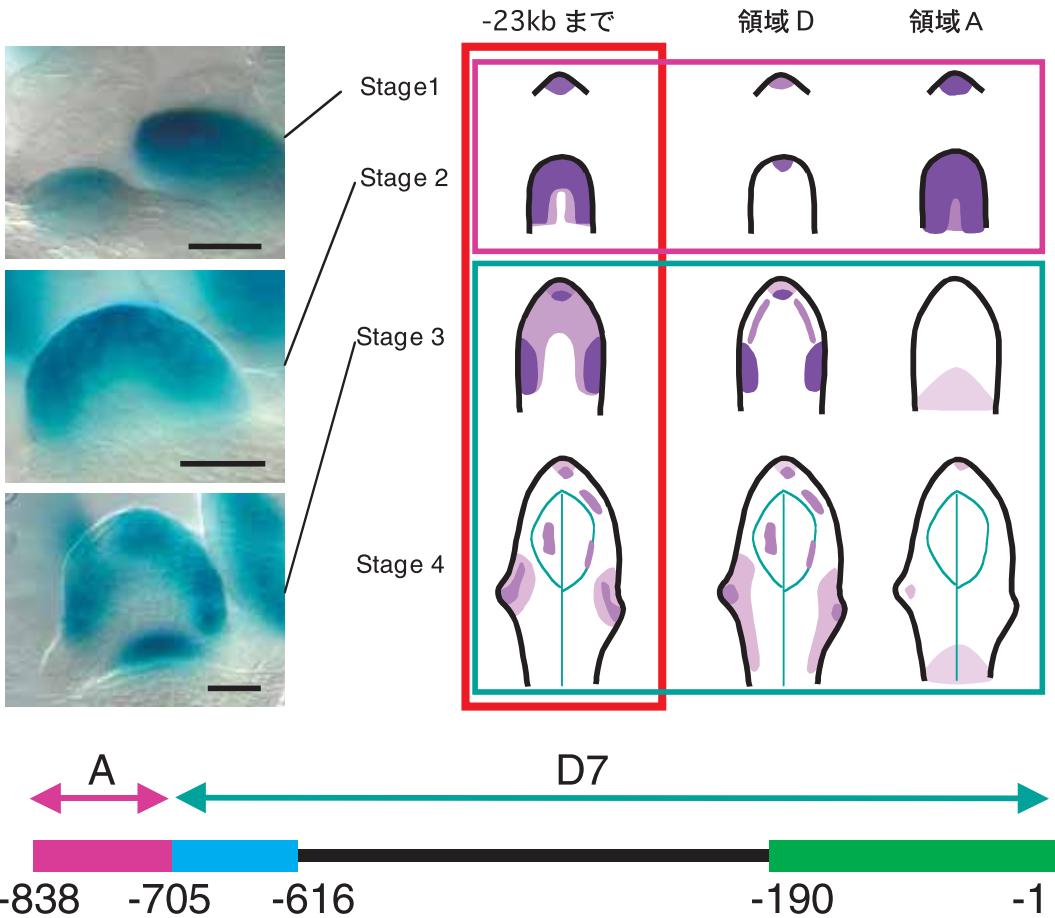


図6 PRS遺伝子プロモーターの解析。PRS遺伝子は葉や花器官の周縁領域で特異的に発現する。プロモーター領域を分けて調べたところ、領域Aが周縁領域特異的な発現に必要十分であることがわかった。

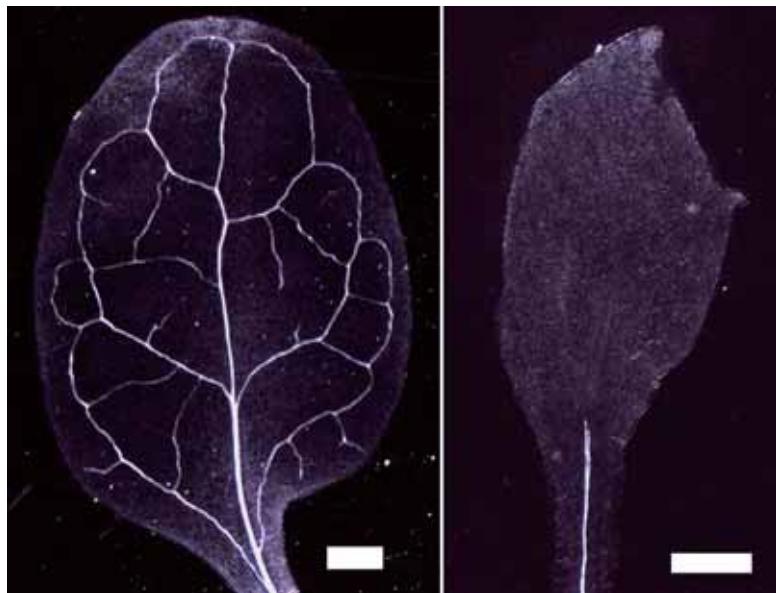


図7 左図は野生型シロイヌナズナの葉、右図はNo vein突然変異体の葉を透明化処理して、葉脈パターンを示した。Novelin突然変異体維管束細胞の前駆細胞群であるpre-vascular layer・vascular layerが形成されない。

れる。また、NO VEIN 遺伝子は、プレ前形成層・前形成層の形成に必要な遺伝子として最初の例であり、この成果により維管束形成の初期過程、特にオーキシン輸送システムとの関わりについて理解する突破口が開けるものと期待される。

### 3.1.2 (町田グループ 中部大学)

#### (1) 研究実施内容及び成果

##### I. 1. 葉の左右対称性に関わる遺伝子群の解析

葉は、扁平であり、葉身の中央にある太い中肋を中心として左右相称である。町田グループは、シロイヌナズナの葉の左右相称的形成に加え、多面的な異常を示す *asymmetric leaves1* (*as1*) 変異体と *asymmetric leaves2* (*as2*) 変異体の分子遺伝学的解析を行い、*AS1*, *AS2* が葉の分化過程において、幹細胞の維持に関わると考えられている class 1 *KNOX* 遺伝子 *BP*, *KNAT2*, *KNAT6* の発現を葉で抑制することを明らかにした。さらに、*AS1*, *AS2* は、葉身の完全な中肋の分化と葉脈パターンの形成に必須であり、左右の協調的細胞分裂をコントロールする機能をもつ可能性を示唆した (Semiarti *et al.* 2001) (図 8A)。これらの解析から、葉が左右非対称になるのは、葉の一部の細胞の分化状態が不完全であるためと考えられた。*AS1* 遺伝子は MYB リピートを

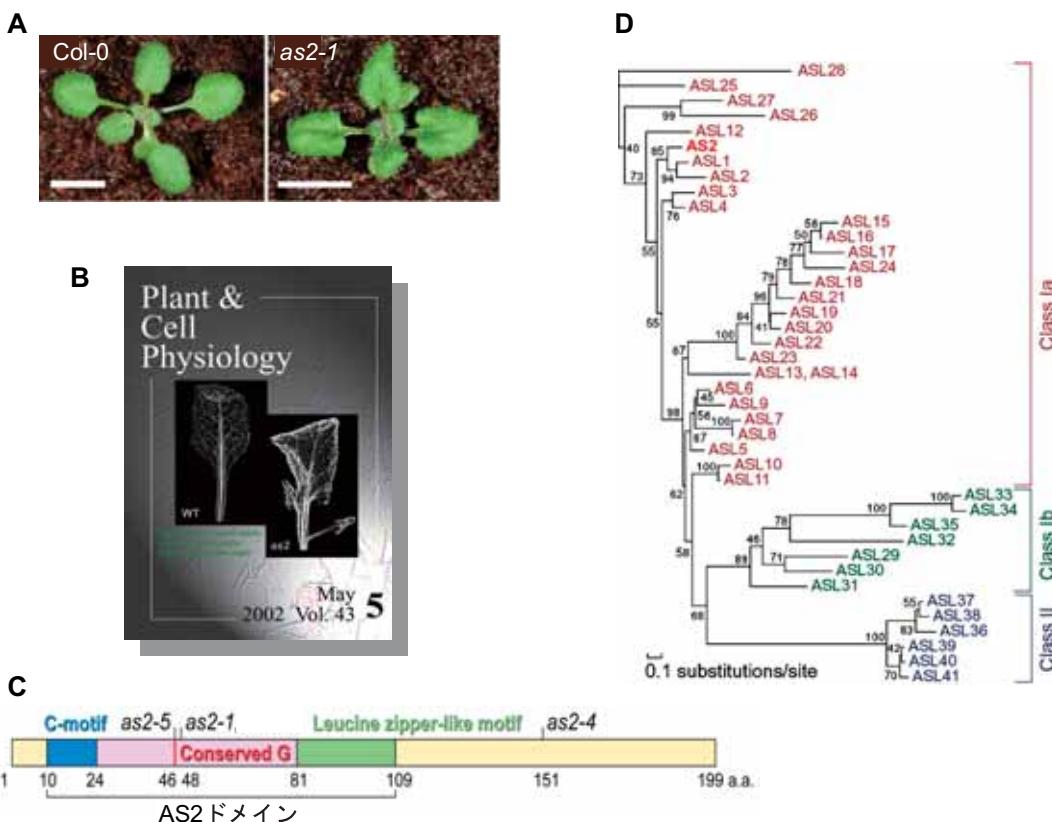


図 8 (A) シロイヌナズナ野生型 (Col-0) と *as2-1* 変異体の 22 日目の植物体。スケールバーは 5 mm. (B) PCP 2002 年 5 月号表紙(文字色のみ改変)。 (C) AS2 タンパク質の構造の模式図。 (D) シロイヌナズナの AS2 ファミリーの系統樹。

もつタンパク質をコードする。我々は、*AS2* 遺伝子をクローニングし、*AS2* 遺伝子が、cysteine に富む特徴的な配列 (C-motif)，保存された glycine (Conserved G) と leucine zipper 様配列をもつ新奇なタンパク質をコードすること、これらの配列を含む約 100 アミノ酸の領域は植物で広く保存されていることを明らかにした (*AS2* ドメインと命名) (特許出願) (図 8C)。また、*AS2* ドメインをもつ新奇なタンパク質ファミリーを *AS2* ファミリーと命名した (Iwakawa *et al.* 2002, PCP 表紙)。*AS2* ドメインをもつタンパク質は、植物界に広く保存されているが、原核生物、酵母、動物にはないことから、植物に特有な形態的、生理的な現象にかかわっている可能性が考えられた。シロイヌナズナには *AS2* ファミリーに属す 42 のメンバーが存在する (*AS2*, *ASL1~ASL41*) (図 8D)。一方、米国の Springer らは、*AS2* ドメインをもつタンパク質をコードする遺伝子として、発現タグ系統から側生器官原基の基部で特異的に発現する *LATERAL ORGAN BOUNDARY DOMAIN PROTEIN* (*LOB*, *AS2* ファミリーに属す遺伝子 *ASL4* に対応) を単離した (Shuai *et al.* 2002)。Springer らと協議し、*AS2/LOB* ドメイン、*AS2/LOB* ファミリー、*ASL1/LBD36* 等と表示することとした。

*AS1* と *AS2* はその機能欠損株が極めて類似した表現型をもつにもかかわらず、図 9 に示すように、*AS1* と *AS2* の mRNA の蓄積パターン、細胞内局在の仕方は必ずしも一致していないことがわかった。本研究では、特に、葉の発生・分化過程で、*AS1* と *AS2* の 2 つの異なる分子が、細胞を超えてどのようにお互いに相互作用して、機能しているのかを明らかにすることを目的として研究を行った。

図 9A に示すように、*AS1* mRNA は P0 ステージから検出されはじめ主に葉原基の中央部で、*AS2* mRNA は茎頂分裂組織と葉原基全体で弱く、向軸側の第一層で少し強く検出された。この

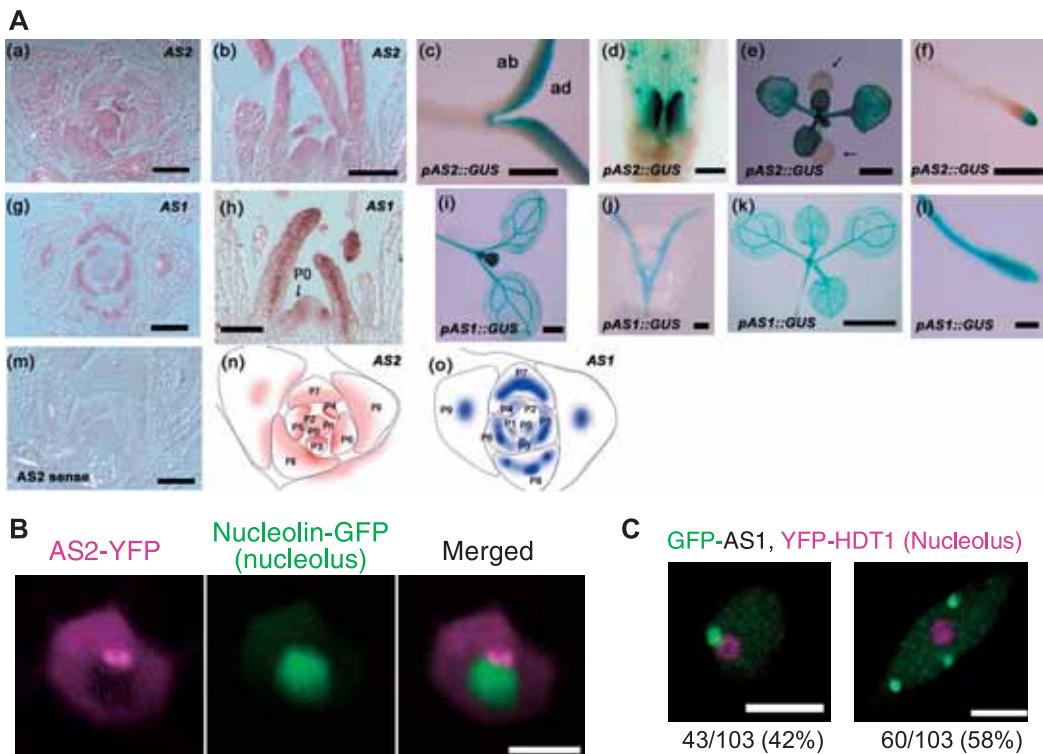


図 9 (A) 栄養成長期における *AS1* と *AS2* の mRNA の蓄積パターン (a–m) と模式図 (n, o)。スケールバーは 100 μm (a, b, d, g, h, j, m), 500 μm (c, f, i, l), 2 mm (e, k)。 (B) *AS2-YFP* 融合タンパク質の核における局在。スケールバーは 5 μm。 (C) *GFP-AS1* 融合タンパク質の核における局在。スケールバーは 5 μm。

のような *AS1* と *AS2* の発現は、葉原基形成の初期に認められるが、成長した葉では次第に弱くなった。*AS1* と *AS2* の mRNA の主な蓄積パターンは異なるが、*AS1* の発現領域で *AS2* を発現しても、*as2* 変異の表現型を相補したことから葉の初期の原基細胞や葉の原基の中央部で *AS1* と *AS2* が共同して機能している可能性が考えられた。さらに、*AS2* の発現量が葉の扁平性において極めて重要であり、*AS1* と *AS2* は葉の表側の細胞増殖の微調整をしていると考えられた (Iwakawa *et al.* 論文投稿中)。さらに、*AS1* と *AS2* タンパク質の細胞内局在を調べるために *GFP::AS1*, *AS2::YFP* 融合体を形質転換した。*AS2::YFP* 蛍光シグナルは核全体に認められ、さらに核小体の周りに強いシグナルが塊状に認められた (図 9B)。形質転換体において、*GFP::AS1* 融合タンパク質の蛍光シグナルは核全体に認められ、約半数では核小体の周りに強いシグナルが塊状に認められた。また約半数の細胞では、核質にドット状の強いシグナルが認められた。*AS1::GFP*, *AS2::YFP* 融合体を *as1* 変異体, *as2* 変異体に形質転換したところ、野生型と同じ局在を示したので、*AS1*, *AS2* はお互いの核内局在には関与していないと考えられる。また、*AS1::GFP* の核小体の周りの強い塊状の蛍光シグナルは、*AS2::YFP* と共に局在した。*AS1* と *AS2* は核小体の周りでは同じ複合体内にある可能性が考えられる (Ueno *et al.* 論文投稿中)。

*AS1* と *AS2* は class 1 *KNOX* 遺伝子の発現抑制に関わっているが、さらに、制御される下流遺伝子を探索するために DNA マイクロアレイを行った。その結果、*as1*, *as2* 変異体においては、*ETT/ARF3* と *ARF4* の mRNA の蓄積が増加していること、class 1 *KNOX* 遺伝子の発現抑制とは独立に抑制されていると考えられた (図 10, 11) (Iwakawa *et al.* 論文投稿中)。*ETT/ARF3* は花弁の背軸化に関わること、*ETT/ARF3* と *ARF4* はともに TAS3 tasi-RNA による分解制御を受けること、葉の分化過程では、*ETT/ARF3* と *ARF4* が共同した機能をもつことがすでに示されている。一方、*HDT1*, *HDT2* の機能喪失体が、弱い *as1* と *as2* の向背軸性の異常を亢進し、棒状の葉を形成することがわかった。*HDT1* は図 9C に示したように核小体に局在する因子である (Ueno *et al.* 論文投稿中)。*as1* と *as2* の変異の表現型を亢進する遺伝子の探索を行い、*RDR6* や複数の新規遺伝子が単離された。*RDR6* は tasi-RNA の生成に関わり、*as1* と *as2* の向背軸性の異常を亢進することがすでに報告されている。*AS1* と *AS2* は *ETT/ARF3* と *ARF4* の抑制を通して葉の向軸化に関わっている可能性が考えられる。また、これらの機能において、クロマチンの構造変換が重要であると考えられる。

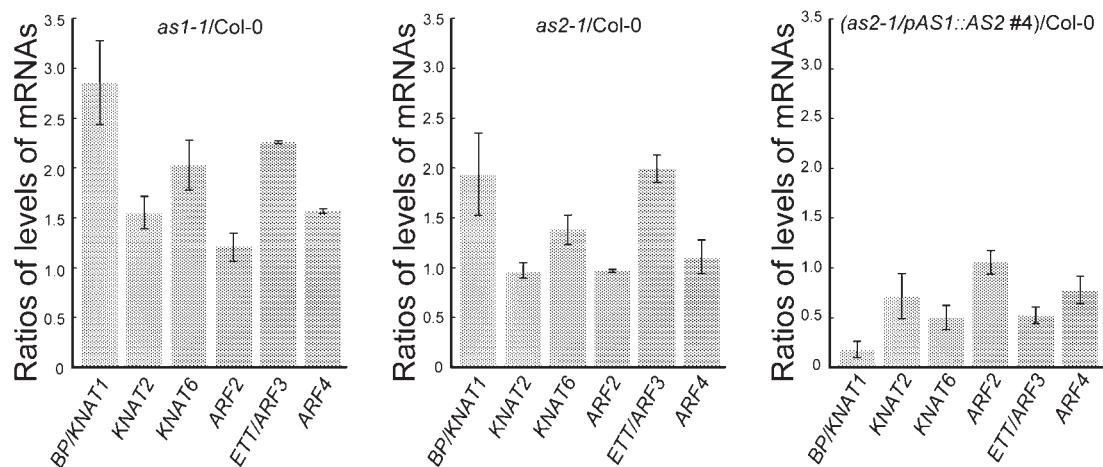


図 10 *as1* 変異体, *as2* 変異体, *AS2* 異所的過剰発現体 (*pAS1::AS2*) における class 1 *KNOX* と *ARF* 遺伝子の発現レベルの real-time PCR による解析。

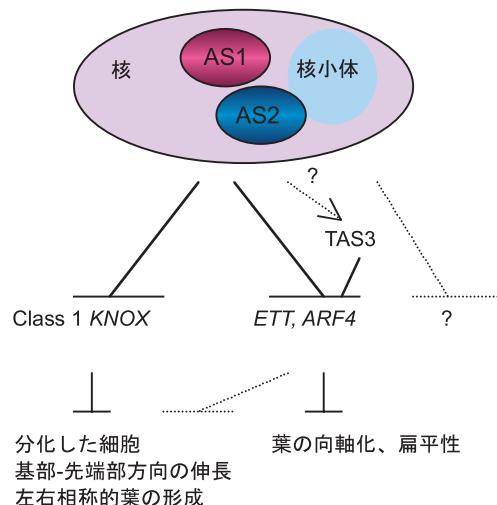


図 11 AS1, AS2 の葉の分化における機能

## (2) 研究成果の今後期待される効果

シロイヌナズナの *AS1* と *AS2* の葉の分化過程における機能について解析し、左右相称的で、向背軸性のある扁平な葉を形成するためには、メリステムの細胞と分化細胞、向軸（表）側の細胞と背軸側（裏）の細胞におけるそれぞれの正確な遺伝子発現制御が重要であることが明らかになった。これらの成果は、今後、細胞の分化過程における、シグナル分子としての植物ホルモン等の作用機構をさぐる重要な手がかりとなると期待される。また、今後、人為的に葉の形態をコントロールすることができ、有用作物の創出につながると考えられる。

### 3.2 (b) 器官の形成にともなう細胞の分化過程を制御する細胞間シグナル機構の制御遺伝子の解析

#### 3.2.1 町田グループ 中部大学応用生物学部

## (1) 研究実施内容及び成果

表皮細胞分化に関わる細胞間シグナリング経路の解明 植物器官の表皮は、疎水性のポリマーであるクチクラで覆われており、水分の喪失を防ぎ、カビや細菌の感染を防御している。クチクラの形成を指標として表皮細胞の分化の機構を解析した。

*ALE1* はズブチリシン様推定セリンプロテアーゼをコードし、葉のクチクラの形成に異常を示すことから、細胞間シグナル伝達物質を生成することにより表皮の分化を促進すると考えられた (Tanaka *et al.* 2001)。クチクラの形成には適切な細胞間シグナリングが必須であるという考えのもと、*ale1* 変異体と共に表皮の異常を示す変異体の同定を試みた。そのような変異体を効率的に識別するためにクチクラの異常を色素による染色で検出する方法（トルイジンブルー法）を考案した（図 12）。

クチクラは疎水性のポリマーであるため、野生型では親水性色素の透過が制限されている。トルイジンブルーは細胞壁成分を染色する親水性の色素であり、葉が染色を受けるかどうかを

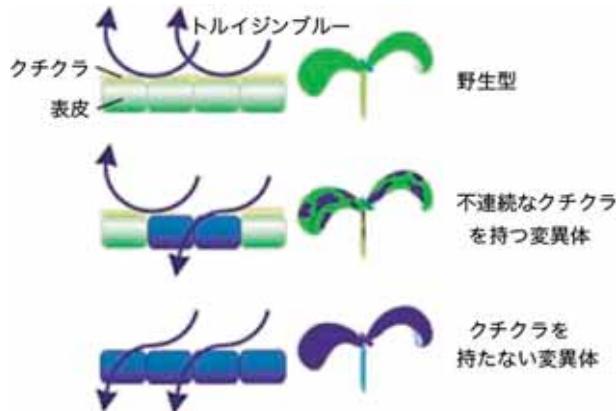


図 12 トライジンブルーを用いた表皮のクチクラ形成の異常突然変異体の検出.

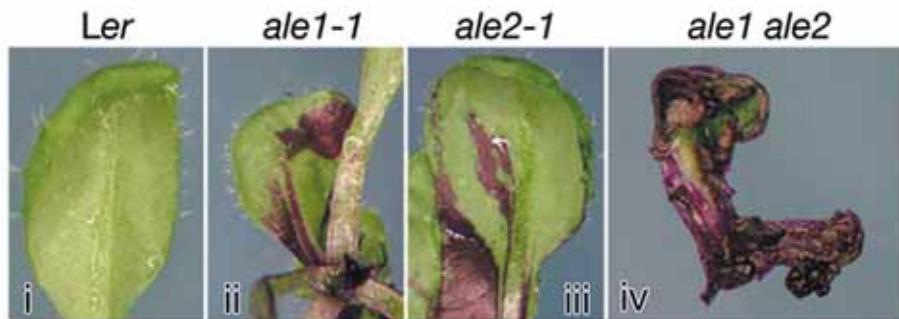
指標にクチクラ機能が低下した変異体を同定することができる。さらに、この方法を用いて順遺伝学的スクリーニングを行うとともに既存の変異体コレクションを精査し、表皮機能に異常を示す多数の変異体を得た (Tanaka *et al.* 2004)。また、トウモロコシの表皮分化に関わる受容体型プロテインキナーゼ遺伝子 *Crinkly4* のシロイヌナズナホモログ *ACR4* に着目し、分子遺伝学的解析を行った。その結果、*ACR4* はシロイヌナズナの生殖成長期において表皮関連組織の分化に関与することが明らかになった (Watanabe *et al.* 2004)。一方、*acr4* 変異体の表現型は栄養成長期には非常に弱く、シロイヌナズナの表皮分化を促進する重複した経路の存在が示唆された。*ale1 acr4* 二重変異体では幼植物体における表皮の異常が亢進されたことから、*ALE1* 遺伝子は *ACR4* と重複した経路で働く因子であると考えられた (Watanabe *et al.* 2004)。さらに、表皮細胞の機能の異常を示す *abnormal leaf shape2* (*ale2*) と *permeable leaves1* (*pel1*), *pel2*, *pel3*, *pel6* 突然変異体に着目し、遺伝子クローニングを進めた。その結果、*ALE2* は新規の受容体型プロテインキナーゼをコードすることが明らかとなった (Tanaka *et al.* 論文投稿中)。その他の遺伝子はクチクラの合成・分泌に直接関わると推察される遺伝子をコードすることが明らかになった (町田グループ、未発表データ)。イネゲノムにも *ALE2* と相同な遺伝子があり、*ALE2* 様受容体型キナーゼは双子葉植物に限らず、表皮分化の制御に関わっている可能性がある。

次に、*ale2* が細胞間シグナリングに関わることが予測されたことをふまえて、*ale1* と *acr4* との遺伝学的関係を解析した。*ale2* 変異体は *acr4* 変異体と同様に幼植物体では弱い表現型を示し、生殖成長期に表皮関連の組織に強い異常を示した。また、二重変異体の解析からは *ALE2* は *ACR4* と同一の経路で作用することが示唆された。一方、*ale1 ale2* 二重変異体は表皮の性質に重篤な異常を示すことが明らかになった (図 13)。

これらの結果は胚形成過程の表皮分化に関わることが示唆されていた *ALE1* 遺伝子は *ALE2* とは独立な経路 (あるいはオーバーラップした経路) で働くことを示唆する。興味深いことに、*ale1 acr4* 及び *ale1 ale2* 二重変異体では胚形成過程に *ATML1*, *PDF1*, *FDH* 等の表皮特異的遺伝子の発現が低下し、地上部の器官の形成が阻害された (図 14)。

*ATML1* は表皮特異的に発現し、地上部の器官形成に必要であることが他のグループから報告されている。また、*fdh* 変異体は *ale1*, *ale2*, *acr4* と類似の表皮機能の異常を示す (Tanaka *et al.* 2004)。これらの結果から、*ALE1*, *ALE2*, *ACR4* が関わる推定細胞間シグナリング経路が表皮特異的遺伝子発現に関与しており、それによって地上部の器官形成を促進していることが考えられる (図 15) (Tanaka *et al.* 論文投稿中)。

A



B

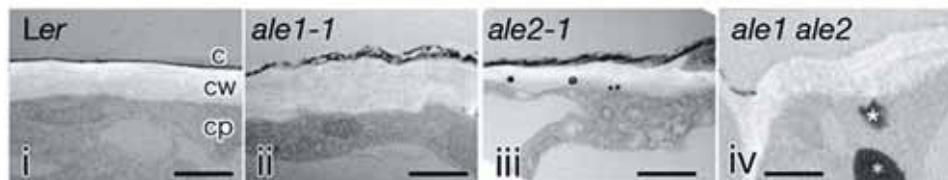


図 13 *ale1* 変異と *ale2* 変異の相乗的効果を示す. (A) トライジンブルー染色による表皮の異常の検出. (B) 透過型電子顕微鏡を用いたクチクラの微細構造の解析. *ale1 ale2* 二重変異体はそれぞれの単独変異体よりも重篤な表皮の機能不全を示す (Biv). 野生型と単独変異体では細胞壁 (cw) の外側に電子密度の高いクチクラ (c) が観察される. 一方, 二重変異体ではクチクラの形成が阻害されている (Biv).

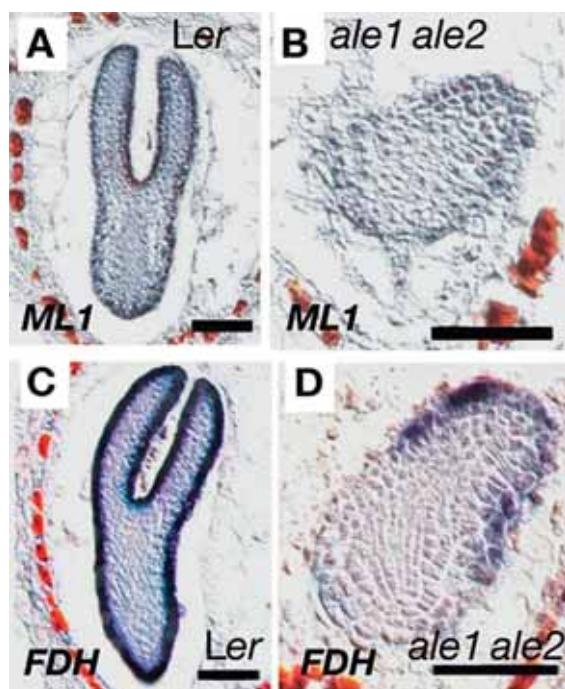


図 14 ALE1 と ALE2 は表皮特異的遺伝子発現に必要である. (A, B) 野生型 (A) と *ale1 ale2* 二重変異体 (B) における *ATML1* RNA の蓄積パターン. (C, D) 野生型 (C) と *ale1 ale2* 二重変異体 (D) における *FDH* RNA の蓄積パターン.

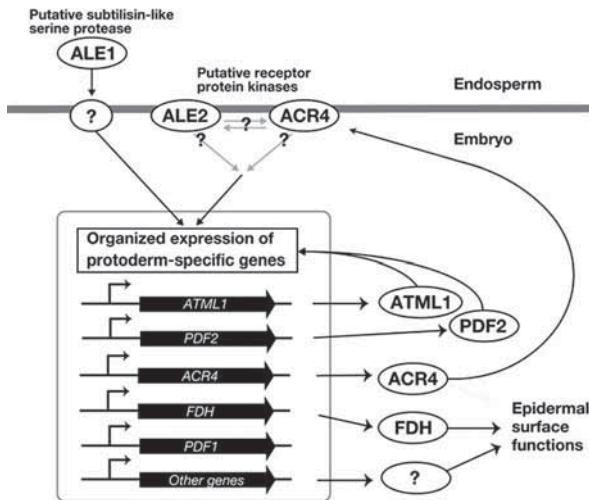


図 15 表皮分化における ALE1, ALE2, ACR4 の作用機構のモデル。ALE1, ALE2, ACR4 は細胞間の情報伝達に関与すると推察される。これらの因子は表皮特異的遺伝子発現を促進的に制御し、ATML1 や FDH 等の因子の発現を介して表皮分化と機能発現を制御していると考えられる。

## (2) 研究成果の今後期待される効果

ALE1, ALE2, ACR4 という 3 つの因子が表皮特異的遺伝子発現に関与することを明らかにした。これらの成果は、今後、表皮分化を制御する細胞間シグナル分子を同定する重要な手がかりとなるだろう。また、表皮組織ではクチクラなどの二次代謝産物が特異的に合成されており、表皮における遺伝子発現制御は乾燥に対する感受性を規定する重要な要因である。それゆえ、本研究で得られた知見は、植物に乾燥耐性を付与する新しい方法を確立するための研究に役立つと思われる。

### 3.2.2 鳥居グループ ワシントン大学植物学部

## (1) 研究実施内容及び成果

### 1. 器官伸長の協調シグナル受容体としての ERECTA タンパク質の生化学的動態。

動物の発生分化を制御する受容体キナーゼの機能解析に、ドミナントネガティブ受容体を利用したアプローチは非常に強力であることが知られる。これは、受容体ドメインと細胞膜貫通部位を持つが細胞内キナーゼドメイン欠損する断片（図 16A）を発現させ、内生の野生型受容体と不活性な二量体を形成させることによりシグナル伝達を抑制させる、という原理に基づいている。しかしながら植物の受容体型キナーゼの機能解析において同様のアプローチは行われていない。我々は、ドミナントネガティブ ERECTA 受容体断片（図 16A）を内生 ERECTA プロモーターにつないでシロイヌナズナ野生型植物体に発現させると ERECTA の機能阻害が起こることを明らかにした。本結果は、ERECTA も動物の受容体キナーゼ同様に受容体複合体を作ることを示唆する。

さらには、*erecta* ヌルアレルにドミナントネガティブ ERECTA 断片を発現させると植物の背丈・器官伸長が激しく阻害されることが解った（図 16B）。*erecta* ヌルアレルはそもそも ERECTA 遺伝子産物を全く作らないため、本結果は、シロイヌナズナの節間・器官伸長は、

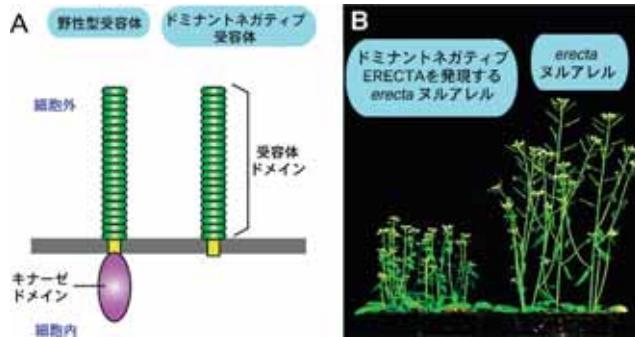


図 16 A. 野生型とドミナントネガティブ型受容体キナーゼ ERECTA の模式図 B. ドミナントネガティブ ERECTA 断片を発現する *erecta* ヌルアレルではシロイヌナズナ背丈・器官伸長が著しく抑制される。

ERECTA を含む機能的冗長性を持つ複数の受容体によって制御されることを示す。ドミナントネガティブ ERECTA 断片は複数の受容体すべてに結合するか、それら受容体のリガンドを吸着してしまうことにより複数の伝達経路をシャットダウンし、節間・器官伸長を阻害すると思われる。この仮説を裏付けるように、ERECTA 断片は内生 ERECTA 非存在下で、~450 kD のタンパク質複合体を形成することが解った。

## 2 : 器官形態を制御するシグナル伝達機構のクロストークの解析

*erecta* 突然変異体の機能を抑制する二次突然変異体の解析を通じて、シロイヌナズナ節間・器官伸長に関わるシグナル伝達機構のネットワークの解明を試みた。具体的には、アクティベーションタギング法により、*erecta* 突然変異体の抑制変異体 *suppressor of erecta1-D (super1-D)* を単離した。この変異体は優性で、原因遺伝子をクローニングした結果、オーキシン合成酵素遺伝子 *YUCCA5* が過剰発現していることが明らかとなった。生化学的な分析結果から、実際に *super1-D* 変異体では遊離オーキシン含量が著しく増加していることも解った。細胞・組織レベルの詳細な観察結果から、ERECTA 受容体キナーゼを介したシグナル伝達経路とオーキシンを介した経路は、共に器官伸張を促進し、どちらかが欠損してももう一方の経路を過剰に活性化することにより、植物の正常な器官伸張が起こることが示唆された。

## 3 : 3 つの ERECTA ファミリー受容体キナーゼの相乗作用による細胞増殖と形態形成の制御

ドミナントネガティブ型の ERECTA 分子を用いた解析から、複数の受容体が冗長的に作用することによって植物の伸張が制御されていることが示唆された。鳥居グループは、さらに研究を発展させ、ERECTA と相乗的に作用する 2 つの受容体 ERECTA-LIKE1 (ERL1) と ERL2 を同定した。ERL1 と ERL2 は、ともに ERECTA と高い相同性を示し、プロモータースワップ解析結果から、ERECTA と機能的に相同的な受容体キナーゼであることが解った。

*erecta/erl1/erl2* 三重変異体は、極端な矮性と花器官の発生異常を示した(図 17)。具体的には、花器官は発生異常を示し、花弁は針状で、薬や子房は形成されず、心皮と花茎は極端に短かい。組織学的解析から器官伸長抑制は細胞数の減少と非均一化によることが分かったため、3 つの受容体キナーゼは細胞分裂を協調的に促進させる機能を持つと考察した。さらに、詳細な発現パターンの解析から、3 つの受容体型キナーゼは花器官形成初期には均一に冗長して発現する事によって迅速な器官生長を促進し、形成後期には局所的・特異的に発現する事により、細部の形態を微妙に調整していると推察された。

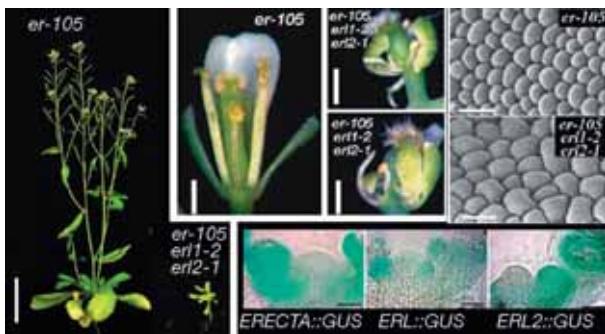


図 17 3つの ERECTA ファミリー受容体キナーゼの相乗的な作用. *erecta* 突然変異体と比べ *erecta erl1 erl2* 3 重突然変異体は極端な矮性を示し(左), 花器官のパターン形成が異常になる(中上). 花弁表皮細胞の比較(右上). 3 重突然変異体の小さな針状の花弁では, 細胞数が著しく減っていることがわかる. 3 つの ERECTA ファミリー受容体キナーゼはほぼ重複した発現パターンを示す(右下).

さらに, ERECTA ファミリーキナーゼがどのような機構で器官サイズを制御するのか調べた. その結果三重突然変異体では特定の A 型サイクリンの発現が抑制されていることがわかった.

#### 4 : ERECTA ファミリー受容体キナーゼによる気孔の分化とパターン形成

シロイヌナズナの受容体キナーゼ ERECTA とそのパラログである ERL1 と ERL2 は植物体の器官生長を相乗的に促進する. 鳥居グループは, 3 つの受容体キナーゼが相乗的に作用することによって, さらに気孔の分化とパターン形成を制御することを明らかにした.

気孔とは, 植物体表皮に無数に存在するミクロサイズの通気口で, 環境に応じて開閉し, 呼吸や炭酸同化(光合成)のために酸素と炭酸ガスの交換や, 植物体内的水分量の調節(蒸散)を司っている. 気孔は植物の生存に必須不可欠なだけでなく, 植物と大気環境とのいわば接点として, 地球環境にも大きな影響を及ぼしている.

*erecta/erl1/erl2* 3 重変異体の表皮には孔辺細胞が大過剰に分化し, また多数の気孔が隣り合せになりクラスターを作ることを見出した(図 18). 詳細な遺伝学的解析から, 3 つの遺伝子が相乗的に作用する事により, 原表皮細胞の非対称分裂を抑制すること, そして, ERL1 と ERL2 は, さらに気孔の前駆細胞(メリステモイド細胞)の孔辺母細胞への分化の抑制することが示された.

ERECTA ファミリー遺伝子の発現パターンはこのモデルを裏付けるものであった. ERECTA,



図 18 ERECTA ファミリー遺伝子は気孔の数と分布を制御する. 野生型(上), *erecta erl1 erl2* 3 重突然変異体(下)

ERL1, ERL2 は葉原器の表皮始原細胞で均一に強く発現し、葉の分化に伴い発現が減少した。一方、一定のステージに達し気孔形成が盛んに行われている葉表皮では、ERL1 と ERL2 の発現が孔辺母細胞で強く認められた。以前から気孔の正常な分布に必要であることが知られる *TOO MANY MOUTHS (TMM)* 遺伝子は、*ERECTA* ファミリー遺伝子の働きを制御していることが示唆された。

TMM は細胞内キナーゼ部位を持たない受容体様タンパク質であり、*ERECTA* ファミリーは受容体型キナーゼである。したがって、TMM と *ERECTA* ファミリータンパク質は、気孔の分布を決める細胞間シグナルの受容体複合体として働くのかもしれない。鳥居グループでは、さらに生細胞イメージングの手法を用いて、これら受容体の分子間相互作用を解析した。具体的には、BiFC (Bimolecular Fluorescence Complementation, Split-YFP 法とも呼ばれる) と呼ばれる手法を共焦点レーザー顕微鏡を用いで行なった。これらの手法は分子間結合を直接測定するものではないが、生きた表皮細胞の細胞膜上で *ERECTA* ファミリー分子と TMM 分子が近傍に局在するかどうかを確認できるという利点がある。現在までに、TMM はホモダイマーを形成しないこと、TMM と ERL1 はヘテロダイマーをつくることが示唆された。この結果は、遺伝学的モデルを裏付けるものである。

## (2) 研究成果の今後期待される効果

本研究の特筆すべき点は、植物の器官成長と気孔の分化という、植物体のバイオマス生産に直接関わる 2 つのプロセスを、同一の受容体キナーゼ群が制御することを明らかにしたことにある。*ERECTA* ファミリー受容体キナーゼは植物の背丈・器官伸長に著しく影響を及ぼすため、遺伝子組換え技術により野菜など作物をよりコンパクトで栽培しやすい形態にデザインする際に有用な遺伝子資源となりうる。

*RECTA* ファミリー遺伝子は、イネなどの重要作物にも存在するため、重要作物のサイズを改良するだけでなく、気孔の分化を調節することによりガス交換能や蒸散にすぐれた品種開発が期待される。気孔は植物の生存に必須不可欠なだけでなく、植物と大気環境とのいわば接点として、地球環境にも大きな影響を及ぼしている。地球上の全植物の気孔を介して年間  $3 \times 10^{18}$  グラムもの二酸化炭素が同化されている。また、一年間に植物体を通じて循環する水分は、大気中の全水蒸気量の二倍にのぼると推察されている。したがって、本成果は、太陽エネルギーを物質へと変換する植物固有の生産性向上に寄与するとともに、環境問題の改善にも貢献すると期待される。

## 2.3 (c) 受精における雌雄配偶体の間のシグナルの解析

### (1) 研究実施内容及び成果

東山グループは、独自に開発したトレニア *in vitro* 重複受精系を用いて、花粉管ガイダンス過程における細胞間シグナリング分子の解析を進めた。はじめに、レーザー細胞除去実験により、長年の謎とされた花粉管ガイダンス分子が確かに存在し、それが卵細胞の隣にある 2 つの助細胞から分泌されることを証明した。さらに、花粉管ガイダンス分子の性質を詳細に解析した。その結果、長年提唱してきた細胞外カルシウムは、少なくともトレニアの助細胞が分泌する単独の花粉管ガイダンス分子ではないことを証明した。また近縁のトレニア属異種やアゼ

トウガラシ属を用いることで、花粉管ガイダンス分子には強い種の特異性が存在することを示した。こうした知見から、花粉管ガイダンス分子は助細胞で生合成される、進化速度の速い物質であると予想された。

そこで助細胞の遺伝子発現プロファイルからの解析を進めた。助細胞のcDNAライブラリーについてはこれまで報告がなかったが、トレニアでは雌性配偶体のプロトプラストを比較的容易に得ることができることから、助細胞25個からcDNAライブラリーを得ることに成功した。EST解析の結果、約5%という高い率でLow-molecular-weight Cysteine-rich Protein (LCR)ファミリーの遺伝子 (*TfLCR1*)が発現していることが明らかとなった。LCRは、アブラナの自家不和合性において花粉側のリガンドとして働くSP11など、しばしば細胞間シグナリングにおいてリガンドとして働く。SignalPプログラムを用いた解析の結果、明確なcleavage siteが予測され、C末端側の70アミノ酸が細胞外へ分泌されると予測された。また、RT-PCR解析の結果、トレニア個体の中でも助細胞だけで特異的に発現していることが示された。大腸菌で発現したTfLCR1 (C末端側の70アミノ酸)をマイクロピペットにより花粉管前方に微量与えたところ、花粉管の15%程度がマイクロピペットに向かって曲がる様子が観察され、TfLCR1は花粉管ガイダンス物質の有力な候補と考えられた。

また、助細胞によるガイダンスの前段階において、助細胞を取り囲む胚珠2n組織から70kDaタンパク質であるAMOR (Activation Molecule for Response-capability)が分泌され、花粉管に作用してガイダンス分子に対する応答能力を付与することが、本研究により明らかとなった。ゲルから切り出されたAMORタンパク質は、単独で活性をもつ。こうした胞子体による制御は少なくとも二段階あり、第一段階として花粉管が花柱を通過することが必要である。AMORは熱定性であり、アラビノガラクトンプロテインなどと相作用して存在することで種々のプロテアーゼに対して耐性を示す可能性が示唆された。

## (2) 研究成果の今後期待される効果

本研究により、花粉管ガイダンスにおける細胞間シグナリングのメカニズム、ならびにシグ



図19 助細胞による花粉管ガイダンス物質の分泌

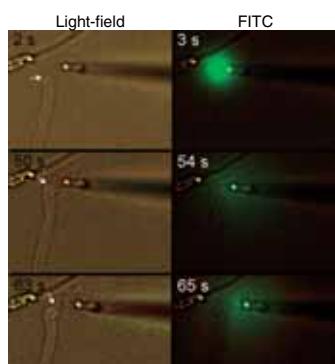


図20 精製TfLCR1を用いた花粉管ガイダンスアッセイ

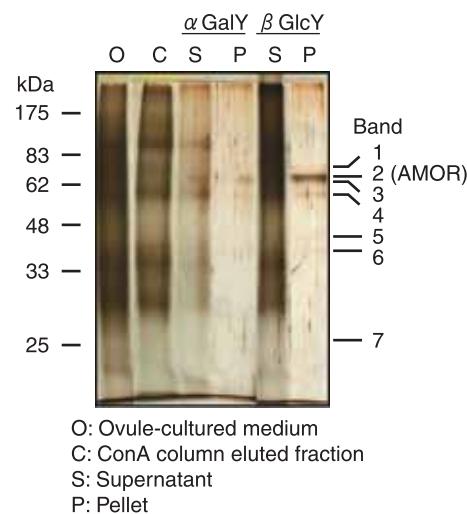


図21 花粉管にガイダンス分子応答能を与えるAMORの同定

ナーリングを担う分子の実体が明らかになりつつある。花粉管ガイダンス分子の探索の歴史は古く、19世紀にさかのぼる。しかし、これまでにガイダンス分子の同定に至った者はいない。本研究で同定された TfLCR1 は、花粉管ガイダンス分子の有力な候補であり、今後これがガイダンス分子であることが証明されれば、花粉管ガイダンスの分子機構の解明が飛躍的に進展することが期待される。ガイダンス分子そのものが強い生殖隔離障壁としてはたらくことも本研究で示されたことから、ガイダンス分子の改変により、これまで不可能だった遠縁の交雑など育種への応用も期待される。また、花粉管が、胞子体組織により、ガイダンス分子への応答能力を制御されるという新しい概念が示された。同様の機構がシロイヌナズナなど他の植物にもあることが示唆されており、世界的にもこの機構が注目されている。本研究により、最終段階で働く分子が 70 kDa タンパク質 AMOR として同定されたことから、今後遺伝子の同定を経て、分子基盤の解明が期待される。すでにトレニアの子房 12 万個の回収を完了しており、精製作業を経て、間もなく遺伝子が同定されるものと期待される。AMOR により、どのようにガイダンス分子の受領および応答のシグナーリングカスケードが働き始めるのか、興味が持たれる。なお、本研究により開発を進めたライブイメージング技術が、それらの解析において重要な基盤技術となると期待される。

### 3.4 (d) 茎頂分裂組織におけるペプチドリガンドの網羅的解析

#### (1) 研究実施内容及び成果

側生器官の先端—基部、表一裏、中央一周縁、などの軸に依存した成長と分化には、茎頂分裂組織と側生器官の原基との間の細胞間シグナル伝達にペプチド性シグナル分子が関わっている可能性が高い。岡田グループでは、ペプチド性シグナル分子を調べるために、若い花序と花芽の巨大な塊であるカリフラワーの花蕾の表面組織を集め、細胞外空間（アポプラスト）に存在するペプチドとタンパク質を抽出し、MS 解析によって部分的なアミノ酸配列を調べるとともに、バイオアッセイ系を用いてペプチド分画に含まれる分子の機能を解析した。

分裂組織周辺に存在するペプチドの網羅的な同定のために、ペプチドの抽出法と分離法を開発し、ペプチドを効率的に同定する系を確立した。食用カリフラワーの花蕾は分裂組織の巨大な集団であり、目的とするペプチドが高濃度で存在すると期待されるので、表面組織をピーラーで削り取り、MgCl<sub>2</sub> 溶液中で減圧吸引し、遠心してアポプラスト液を集め、細胞間隙に存在するタンパク質を抽出した（図 22）。二次元電気泳動法では低分子量ペプチドを分離するのが難しいが、Tris-Tricine 電気泳動法と組み合わせる事で 3 kDa 程度のペプチドまで分離することができた。3 kDa–20 kDa の範囲に検出できた 220 個のうち 44 個について LC-MS/MS 及び Edman 法による部分アミノ酸配列の決定を行い、タンパク質を同定した（図 23）。さらに、二次元電気泳動では分離が難しい 4 kDa 以下のペプチドを同定するために“ショットガン解析”を行った（図 24）。カリフラワーの花蕾に似た花序を作るシロイヌナズナの ap1/cal 二重突然変異体から同様に細胞間隙に存在するタンパク質を抽出し、0.5 kDa–4 kDa の分子量のものをゲル濾過により分取した。LC-MS/MS によってアミノ酸配列を調べ、シロイヌナズナのゲノムデータベースと照らし合わせてペプチドの前駆体タンパク質と遺伝子を推定した。ペプチド性 MS/MS シグナルを 1299 種類得て、Mascot search でシロイヌナズナのデータベースに対して検索したところ、信頼性のあるもの（スコア 22 以上）として 339 種類のタンパク質を同定した。前駆体タンパク質の配列を調べ、細胞外分泌性シグナルペプチドと思われる配列を持つものを

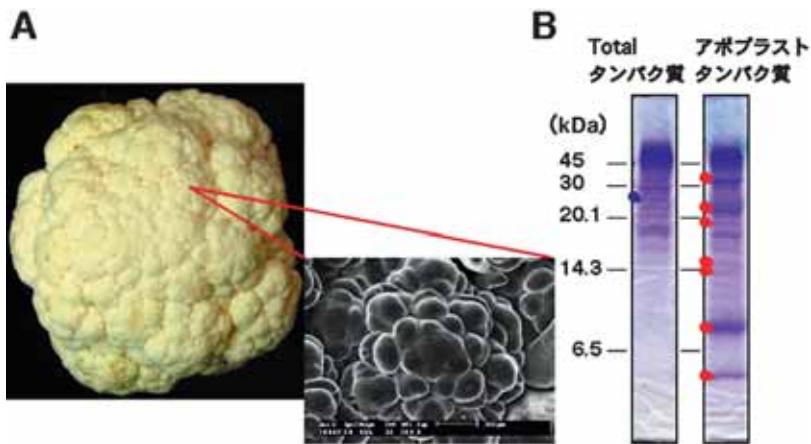


図22 カリフラワーからのアポプラストタンパク質の抽出

A : カリフラワーの花蕾は花序分裂組織的巨大な集団

B : アポプラストタンパク質の SDS-PAGE 像

赤丸はアポプラスト抽出により新たに出現したバンドを示す。青丸はアポプラスト抽出により消えたバンドを示す。total タンパク質と比較してアポプラストタンパク質では大きく組成が異なることから、効率よくアポプラストタンパク質が抽出できていることが分かる。

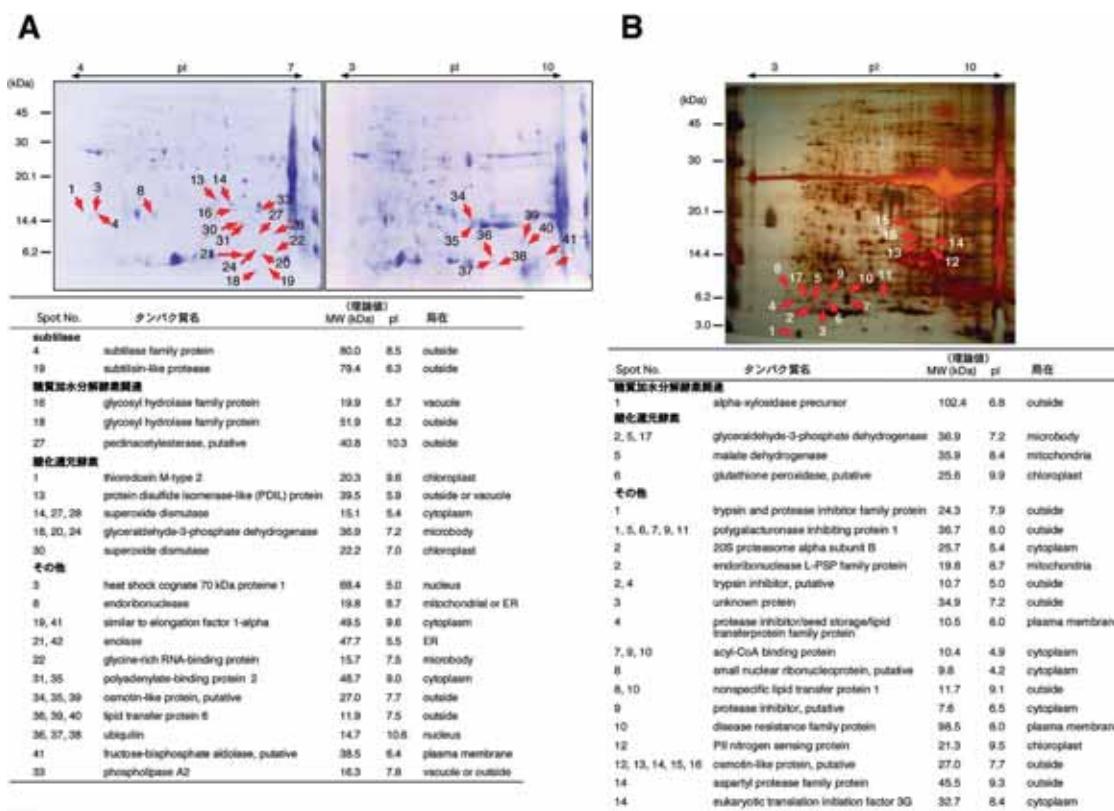


図23 二次元電気泳動によるペプチドの分離と同定

カリフラワーの花蕾から細胞間隙に存在するペプチドを抽出し、二次元電気泳動により分離した。ペプチドの部分アミノ酸配列を決定し、シロイヌナズナのデータベースを検索することで同定を行った。タンパク質名はTAIR annotationsに基づく。タンパク質の細胞内局在はPSORTにより予想した。

A : Edman 解析によるペプチドの同定

CBB 染色の後、各スポットを Edman 解析して部分アミノ酸配列を決定した。

B : LC-MS/MS 解析によるペプチドの同定

銀染色の後、各スポットを LC-MS/MS 解析して部分アミノ酸配列を決定した。

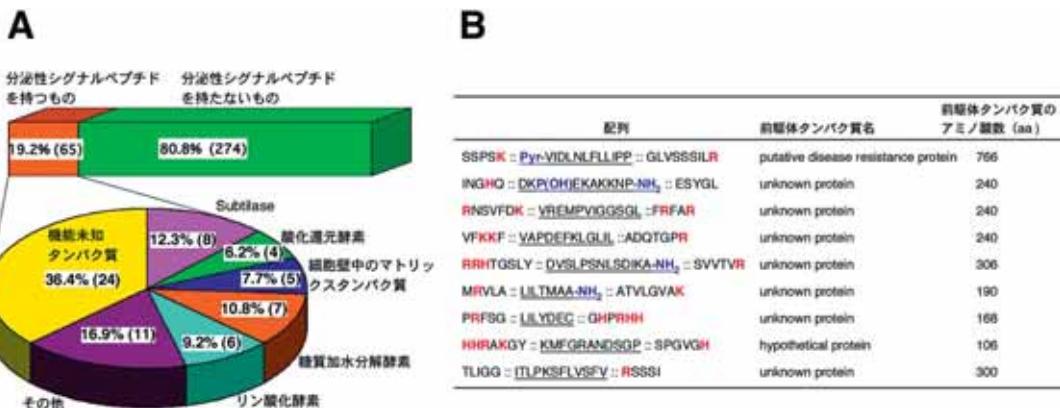


図 24 ショットガン解析によるペプチドの同定

ap1/cal 二重突然変異体の花蕾から細胞間隙に存在するペプチドを抽出し、LC-MS/MS によるショットガン解析で同定した。

#### A : 同定したペプチドの機能分類

分認性シグナルペプチドを持つものを選抜し、TAIR annotations に基づき機能分類を行った。カッコ内は個数を示す。

#### B : ペプチドホルモンとして可能性の高いペプチド

配列のアンダーラインは構造決定したペプチド。::の前後は前駆体タンパク質のアミノ酸配列。赤字は subtilase の認識に関わる可能性のある塩基性アミノ酸。青字は修飾されているアミノ酸残基。Pyr- ; ピログルタミン酸、P (OH) ; ヒドロキシプロリン、-NH<sub>2</sub> ; C 末端アミド化

65 種類選別した。その内には機能未知タンパク質が 24 種類含まれており、修飾アミノ酸を持つものやプロセッシング酵素の認識に関わると予想される塩基性のアミノ酸残基が存在するものなどペプチドホルモン遺伝子として可能性が高いと考えられる。これらの遺伝子のノックアウト株を栽培して形質異常を調べているが、現在のところ形質異常は見出されていない。これらのペプチドは化学合成して機能解析をおこなう予定である。また、339 種類のタンパク質の中にはペプチドホルモンのプロセッシングに関わるプロテアーゼ (subtilase family) が二次元電気泳動法では 2 種類、ショットガン解析では 8 種類同定できた。二次元電気泳動で同定した 2 種類はショットガン解析で同定した 8 種類に含まれていた。シロイヌナズナでは少なくとも 56 種類の subtilase が存在するが、この 8 種類が茎頂におけるペプチドホルモンのプロセッシングに主に関与している可能性が高い。

「生物検定を利用した生理活性を有するペプチドの探索」に関しては、生物検定法を確立し、様々なペプチドが茎頂分裂組織の形状やサイズの調整に関わっていることを明らかにした。カリフラワー 10 個から細胞間隙に存在するタンパク質を抽出し、0.5–7.0 kDa のペプチドをゲル濾過で 8 つに分画した。各々を 1 ml の液体培地に溶解し、その培地中でシロイヌナズナを発芽・生育させることで細胞間隙にペプチドを浸透させた。カリフラワー 10 個分のペプチドを投与しているので、過剰発現、あるいは異所的発現を模した検定法であると言える。MW=3000 以上のペプチド画分を投与した場合では顕著な異常は認められなかったが、MW=500–3000 のペプチド画分を投与した場合、本葉の発生・主根の伸長・側根の発生に異常が認められた。

茎頂分裂組織の形状とサイズを観察したところ、分子量 500–1000 kDa の画分では分裂組織が小さくなる効果が認められた（図 25）。一方、分子量 1000–2000 kDa と分子量 2000–3000 kDa の画分では分裂組織が扁平になった（図 26）。CLV3 ペプチドが茎頂分裂組織組織の形態を扁平にすることが報告されているが、活性のある CLV3 ペプチドは分子量 1000–2000 kDa の画分に含まれると予測されるので、他の画分に認められた活性は CLV3 以外の新規ペプチドで

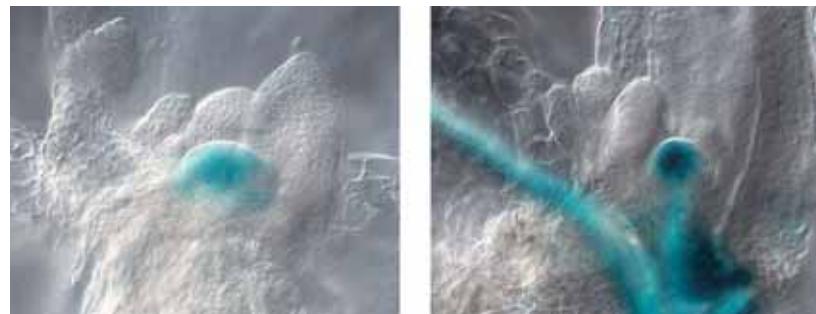


図 25 左 : CLV3::GUS を持ったシロイヌナズナの茎頂分裂組織. 右 : 分子量 500–1000 kDa のペプチド分画を加えたもの. 茎頂分裂組織のサイズが小さい.

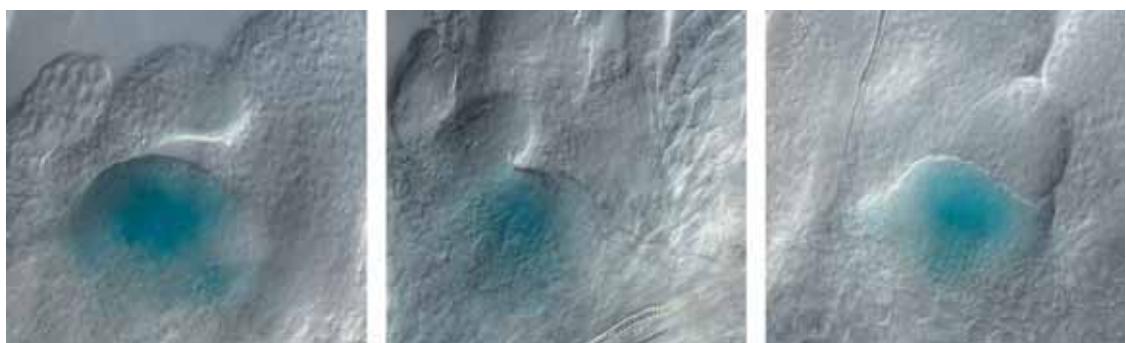


図 26 左 : CLV3::GUS を持ったシロイヌナズナの茎頂分裂組織. 中 : 分子量 1000–2000 kDa の画分を加えたもの. 茎頂分裂組織が扁平になっている. 右 : 分子量 2000–3000 kDa の画分を加えたもの. 茎頂分裂組織の表皮細胞が膨らむ.

ある可能性が高い. 現在, 逆相カラムで活性のある画分をさらに分画し, 活性を追っている.

## (2) 研究成果の今後期待される効果

シロイヌナズナのポストゲノム解析の一つとして発現遺伝子を網羅的に解析するシステム生物学アプローチが盛んにおこなわれているが, 茎頂分裂組織の細胞間隙に存在するペプチドを解析した研究はまだ報告されていない. この研究は, 分子遺伝学を中心とする岡田グループの従来の研究方向とは異なっているが, 本研究の枠内で, 思いきって踏み出すことにした. 細胞間隙のタンパク質やペプチドを効率よく抽出する手法や二次元電気泳動で検出限界以下のペプチドの解析方法などについて試行錯誤を繰り返したが, ようやく, 多数のペプチドを同定することができとなり, また, バイオアッセイ系が動き始めるようになった. 当初の目標である位置情報を担う分子の同定はできていないが, この解析を継続することによって目的に達することができるとの手応えを感じている. 本研究が刺激となって, 他の組織や植物種を用いて同様な解析がおこなわれることを期待する.

### 3.5 (e) 植物体における物質移動のバイオイメージング系の開発

#### (1) 研究実施内容及び成果

植物体中の物質がどのように移動しているかをリアルタイムの画像で解析できるようになれば、従来の技術では明らかにできなかった短時間におこる植物の物質輸送、シグナル伝達などのメカニズムをより詳細に解析することが可能となる。中西グループは放射性同位体元素で標識した物質を植物に与え、生じた放射線をシンチレータにより光に変換後、超高感度カメラを用いることで、2次元の位置情報を保持したままリアルタイムに解析可能なリアルタイムトレーサー装置の開発を行った。装置は植物の組織間の物質動態を解析可能なマクロイメージング装置と組織内での細胞間の物質動態解析を目的としたミクロイメージング装置の両方の開発を行った。

本研究で開発したイメージング装置は研究用として汎用な $\beta$ 線放出のラジオアイソトープ、 $^{14}\text{C}$ ,  $^{45}\text{Ca}$ ,  $^{32}\text{P}$ などを対象としており、製造にサイクロトロンを必要とするポジトロン放出各種を対象としているPETISに比べて汎用性が非常に高い。また放射線を光に変換する各種シンチレータ、イメージングインテンシファイアをはじめとする高感度光検出器や高分解能化デバイスなどを詳細に検討した結果、従来到達し得なかった超高感度のリアルタイムラジオグラフィを取得可能としている。その感度の高さは、現在、放射線画像を取得するシステムの中で現在最も感度が高く、解像度も良好と評価されているIPと比較すると、単位時間当たりの検出感度はその10倍以上の高感度を達成している(図27)。

検出感度が高いということは、画像一枚あたりの取得時間がより短時間とすることが可能であり、より高い時間分解能が必要とされる生命現象をリアルタイムで動画としてとらえることができる意味する(図28)。また解像度もIPとほぼ同程度に高いものであった(図29)。

マクロイメージングの装置は、開発当初  $5\text{ cm} \times 5\text{ cm}$  (解像度  $100\text{ }\mu\text{m}$ ) の視野であったもの

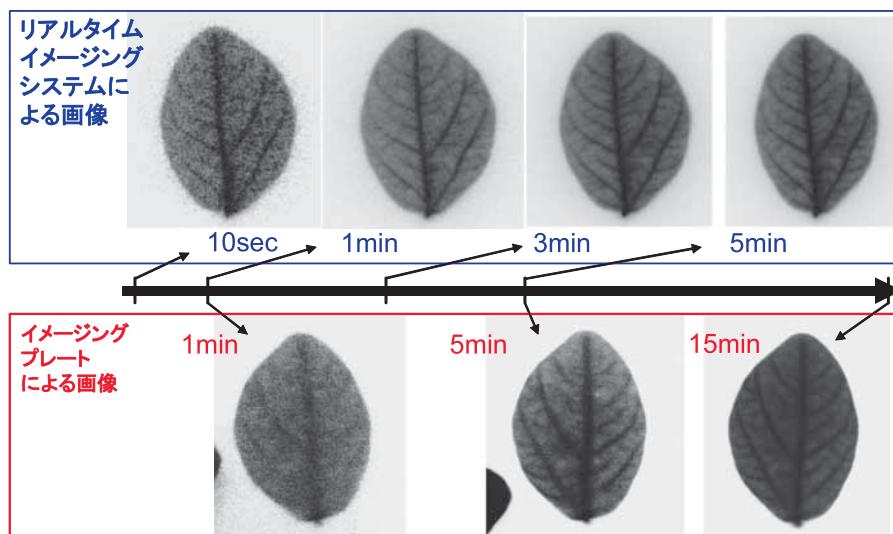


図27  $^{32}\text{P}$ 標識ダイズのIPとリアルタイムイメージングシステムによる画像の比較

\*本研究で開発したリアルタイムイメージングシステムのほうがIPよりも10倍以上感度が高く、はるかに短い時間で詳細な画像を取得できる。

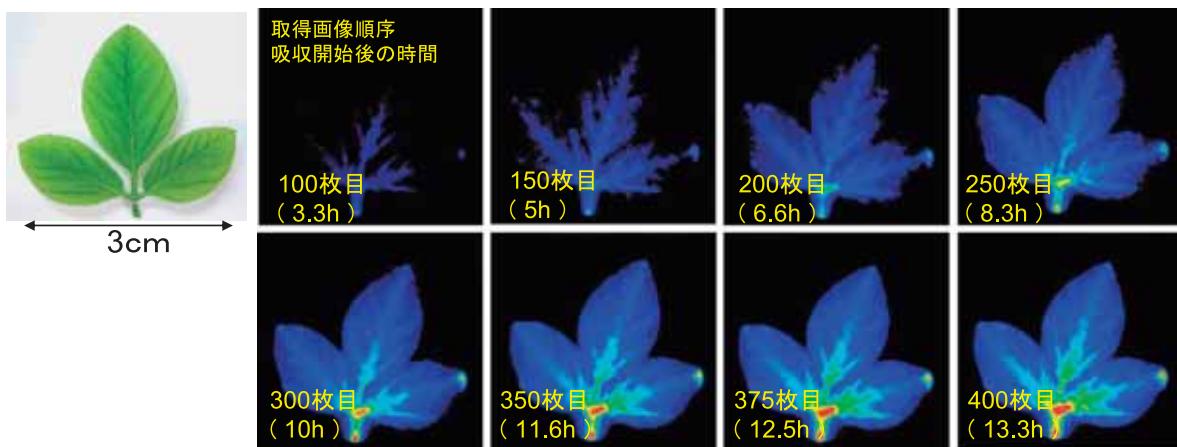


図 28 ダイズ幼植物への $^{32}\text{P}$ 吸収の連続画像解析

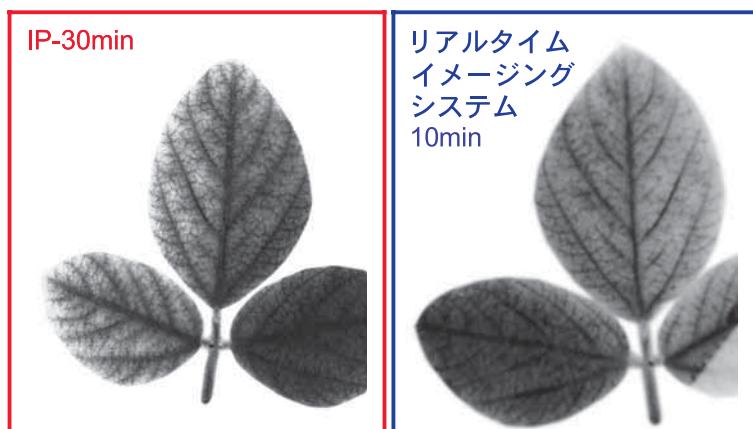


図 29  $^{45}\text{Ca}$ 吸収大豆幼植物の画像

リアルタイムイメージングシステムは IP とほぼ同じ解像度  $100\mu\text{m}$  の高解像度画像を取得できる。

を改良し、 $10\text{ cm} \times 20\text{ cm}$ （解像度  $500\mu\text{m}$ ）～ $\text{mm}$  視野の拡大を行い、幼植物であれば植物全体を視野に RI 標識化合物の動態を画像化可能とした。これにより、比較的大きな植物組織も含めたリアルタイムトレーサー解析が可能となった。これを用い、大豆幼植物を用いリン酸欠乏時および再びリン酸を供給したときなどにおける植物内でのリン酸の詳細な挙動を解析した。現在トランスポーターの発現を解析しており、遺伝子発現との相互関係を検討している。

マクロイメージングの開発段階において、本システムの感度が細胞数層の植物切片のラジオアイソotope ( $\text{Ca}^{2+}$  約  $1\text{ Bq}$  程度) も検出可能であったため、対象物が細胞レベルの微小組織であってもリアルタイムトレーサー解析が可能であると考えられ、2年目より細胞レベルでのリアルタイムトレーサー追跡が可能なミクロイメージング装置の開発を行った。ミクロイメージングを行うにあたっての問題点は、微細組織を拡大観察することによるサンプルの光シグナルが減少し、検出が困難になると、細胞の識別が可能なレベルに解像度を向上させる必要があることであった。この問題点をシンチレータ観察用の対物レンズを新たに作成して顕微鏡に搭載することや、ファイバープレートなどを使用することにより、細胞一層の組織切片であってもラジオアイソotopeの分布をほぼ細胞レベルで検出可能となっている（図 30）。

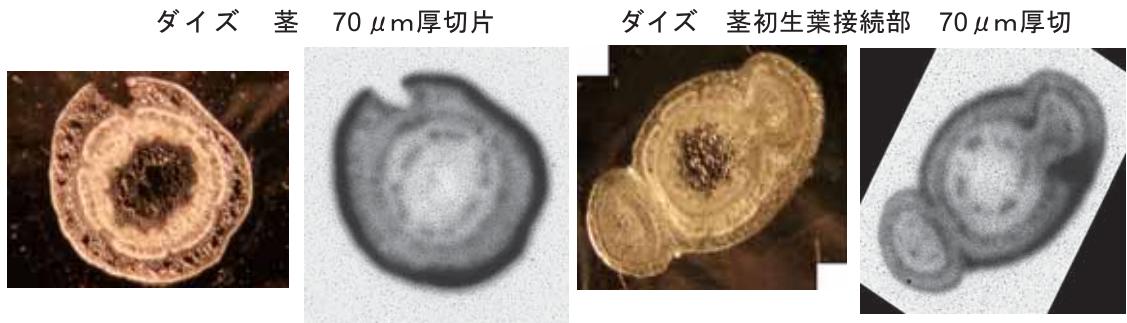


図 30

これにより本研究の最終目標である細胞レベルにおけるシグナリング、物質動態解析を明らかにすることが可能なシステムの構築を進めている。

## (2) 研究成果の今後期待される効果

動植物体の遺伝子、組織や細胞の機能解析は現在、分子生物学的な解析が基本的なアプローチとなっており、一連のバイオテクノロジーを用いた研究成果は新しい医薬品の開発や植物の品種改良などに代表されるように現代社会において、極めて先進的で重要な分野である。また本分野は特に先進国においては産業としても国際的に激しい競争が行われている。その中でヒトをはじめとするゲノム解読は様々な生物種で進んでおり、今後は1つ1つ遺伝子の役割を明らかにしていくことが医薬品開発などにおいて重要な課題となっている。どのような組織、細胞で遺伝子が発現しているかを調べる遺伝子発現解析は、近年著しい技術革新が行われたGFPをはじめとする蛍光タンパク質や免疫法による標識技術によるところが大きく、細胞での遺伝子発現や発現タンパク質の検出が1分子イメージングの文字通り、超高感度に検出することが可能となってきており研究が進められている。

また、遺伝子の発現解析と並んで重要な研究は細胞間の物質のやり取りについてである。医薬品、ホルモン、農薬などに代表される化学物質の細胞間輸送やシグナル伝達についても現在盛んに研究が行われてきているが、先に示した蛍光タンパク質を使用する技術により、細胞で発現しているトランスポーター、チャネルの発現解析、これら膜タンパク質の細胞内での配置などの詳細な性質が明らかにされ、物質の移動はかなり厳密に制御されていることが分子レベルで明らかになりつつある。しかし、蛍光物質はそれ自体がかなり大きな分子であり、水やイオン、低分子物質までは原理的に蛍光標識ができない。そのため実際の化学物質の組織内の細胞レベルでの動態は不明な点が多い。(標識しても本来の動態は失われてしまうため。)

そこで従来の蛍光タンパク質による遺伝子発現解析に加え、シグナルとなる物質の動態をそのもの自体の物性、動態を変化させることなく標識しこれを高感度で追跡することを可能とする技術の開発が待望されている。このような物質動態を解析する手段については本来の物質と同じ物性を持ち、全く同じ動態を示す放射性同位体標識体を利用する他に方法がない。またもちろん生物のこのような物質動態は連続的な現象であり、その解析も当然リアルタイムかつ定量的であることが求められる。

このように生きた組織における pmol 以下のイオンや化学物質のリアルタイムの動態解析は計測手法が未発達の分野であり、高感度、高解像度かつリアルタイムで定量的に解析できる手法が現在最も必要とされている。高感度で物質動態をイメージングできる手段があれば今まで

の科学的手法では達成することができなかつた新たな研究を数多く進めることが可能となり、学術分野のみならず新しい医薬品の開発などにおいても大きな進歩をもたらすことが期待される。この社会的な要望に対し、本研究で開発したラジオアイソトープ標識化合物のリアルタイム検出システムは極めて有効である。

今後さらに様々な分野の研究者が使用できるようにするために数多くの研究者が使用している顕微鏡にこの機能を搭載されたシステムの可能性が考えられ、平成18年11月より、本研究の結果に基づき装置の実用化を目的として株式会社カールツァイスとの共同研究を立ち上げております。独立行政法人 科学技術振興機構の産学共同シーズイノベーション化事業の顕在化ステージにおいてラジオアイソトープ一蛍光顕微鏡の実用化を目指して引き続いて研究を行っている。

従来の蛍光顕微鏡に新しい機能が追加されることにより、遺伝子発現と標的化合物の分布や移動を一挙に解析していくことが可能となり、このシステムは現代のバイオテクノロジー分野において極めて強力なツールとなることが期待される。

#### 4 研究参加者

①岡田グループ（葉の表（向軸側）と裏（背軸側）の区別など側生器官の基本的な構造を決定する細胞間シグナル機構の研究および茎頂分裂組織におけるペプチドリガンドの網羅的解析）

氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
岡田清孝	京都大学理学研究科	教授	研究項目全体を統括し、研究の進展に責任をもつ	H13.10–H19.3
榎木竜二	京都大学理学研究科	助手	岡田を補助し、大学院生や研究員とともに研究をおこなう。	H13.10–H19.3
松本任孝	京都大学理学研究科	助手	岡田を補助し、大学院生や研究員とともに研究をおこなう。	H16.9–H18.11
住田（玉井）育子	京都大学理学研究科	CREST 事務員	本研究グループ全体の事務処理を担当する。	H13.1–H15.9
米田美穂	京都大学理学研究科	CREST 事務員	本研究グループ全体の事務処理を担当する。	H15.9–H19.3
佐々木智行	京都大学理学研究科	研究補助員	岡田グループの研究を補助する。	H13.5–H18.9
土田祐平	京都大学理学研究科	CREST 研究員	岡田を補助し、大学院生とともに研究をおこなう。	H16.4–H19.3
渡辺恵郎	京都大学理学研究科	CRERT 研究員	岡田を補助し、大学院生とともに研究をおこなう。	H16.4–H18.4
石橋 桂	京都大学理学研究科	大学院 M1	岡田を補助し、大学院生とともに研究をおこなう。	H17.12–H19.3
田中奈々	京都大学理学研究科	大学院 M1	岡田を補助し、大学院生とともに研究をおこなう。	H17.12–H19.3
中田未友希	京都大学理学研究科	大学院 M1	岡田を補助し、大学院生とともに研究をおこなう。	H17.12–H19.3

②町田グループ（葉の左右の対称性など側生器官の基本的な構造を決定する細胞間シグナル機構の研究および器官の形成にともなう細胞の分化過程を制御する細胞間シグナル機構の研究）

氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
町田千代子	中部大学応用生物学部	教授	研究の遂行ととりまとめ	H13.10–H19.3
小島晶子	中部大学応用生物学部	助手	町田を補助し、学生や研究員とともに研究をおこなう。	H13.10–H19.3
田中博和	中部大学応用生物学部	CREST 研究員	町田グループの研究を分担しておこなう。	H14.4–H17.3
平野美奈子	中部大学応用生物学部	研究補助員	町田グループの研究を分担しておこなう。	H15.5–H16.7
興梠紫乃	中部大学応用生物学部	研究補助員	町田グループの研究を分担しておこなう。	H17.5–H18.3
松山留美子	中部大学応用生物学部	研究補助員	町田グループの研究を分担しておこなう。	H18.4–H19.3
江口和代	中部大学応用生物学部	研究補助員	町田グループの研究を分担しておこなう。	H18.4–H19.3

③鳥居グループ(器官の形成にともなう細胞の分化過程を制御する細胞間シグナル機構の研究)

氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
鳥居啓子	ワシントン大学植物学部	助教授	研究の遂行ととりまとめ。	H13.10–H19.3
Elena D. Shpak	ワシントン大学植物学部	CREST 研究員	鳥居グループの研究を分担しておこなう。	H14.4–H16.6
Jessica McAbee	ワシントン大学植物学部	CREST 研究員	鳥居グループの研究を分担しておこなう。	H16.6–H18.6
金岡雅浩	ワシントン大学植物学部	CREST 研究員	鳥居グループの研究を分担しておこなう。	H18.6–H19.3

④東山グループ（受精における雌雄配偶体の間のシグナルの解析）

氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
東山哲也	東京大学大学院理学系研究科 H19.1より 名古屋大学教授	助手	研究の遂行ととりまとめ。	H13.10–H19.3
中野明彦	東京大学大学院理学系研究科	教授	東山グループの研究を助言する。	H16.4–H19.3
稻継理恵	東京大学大学院理学系研究科	CREST 研究員	東山グループの研究を分担しておこなう。	H16.4–H18.8

⑤中西グループ（植物体内における物質移動のバイオイメージング装置の開発）

氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
中西友子	東京大学農学系研究科	教授	研究の遂行ととりまとめ.	H16. 4–H19. 3
田野井慶太朗	東京大学農学系研究科	助手	中西グループの研究を分担しておこなう.	H16. 4–H19. 3
頼 泰樹	東京大学農学系研究科	CREST 研究員	中西グループの研究を分担しておこなう.	H16. 4–H19. 3

5 招聘した研究者等

氏名（所属、役職）	招聘の目的	滞在先	滞在期間
Dr. Gerd Jurgens (Tubingen University, Germany, Professor)	セミナーの開催	京都	平成 17 年 5 月 2 月 26 日より 3 月 11 日まで
Dr. Ulrike Mayer (Tubingen University, Germany, Senior Researcher)	セミナーの開催	京都	平成 17 年 5 月 2 月 26 日より 3 月 11 日まで

6 成果発表等

(1) 原著論文発表（国内誌 0 件、国際誌 62 件）

Eiko Kanaya, Keiro Watanabe, Noboru Nakajima, Kosuke Morikawa, Kiyotaka Okada, Yoshiro Shimura: Zinc release from the CH2C6 zinc finger domain of FILAMENTOUS FLOWER protein form *Arabidopsis thaliana* induces self-assembly. *J. Biol. Chem.* 276, 7383–7390 (2001)

Ryouichi Tanaka, Yasuhiro Koshino, Shinichiro Sawa, Sumie Ishiguro, Kiyotaka Okada, Ayumi Tanaka: Overexpression of chlorophyllide a oxygenase (CAO) enlarges the antenna size of photosystem II in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.* 26, 365–374 (2001)

Takatoshi Kagawa\*, Tatsuya Sakai\*, Noriyuki Suetsugu, Kazusato Oikawa, Sumie Ishiguro, Tomohiko Kato, Satoshi Tabata, Kiyotaka Okada, Masamitsu Wada: *Arabidopsis NPL1*: A phototropin homologue controlling the chloroplast high-light avoidance response. (\*equal contribution) *Science* 291, 2138–2141 (2001)

Tatsuya Sakai\*, Takatoshi Kagawa\*, Masahiro Kasahara, Trevor E. Swartz, John M. Christie, Winslow R. Briggs, Masamitsu Wada, Kiyotaka Okada: *Nph1* and *NPL1*: blue-light receptors that mediate both phototropism and chloroplast relocation in *Arabidopsis*. (\*equal contribution) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98, 6969–6974 (2001).

Kenta Tanaka\*, Kentaro K. Shimizu\*, Michiko Nakagawa, Kiyotaka Okada, Abang A. Hamid, Tohru Nakashizuka: Multiple factors contribute to outcrossing in a tropical emergent, *Dipterocarpus tempehes*, including a new pollen-tube guidance mechanism for self-incompatibility. (\*equal contribution) *Am. J. Bot.* 89, 60–66 (2002)

Hiroko Urawa, Masumi Hidaka, Sumie Ishiguro, Kiyotaka Okada, Takashi Horiuchi: Enhanced homologous recombination caused by a non-transcribed spacer of the ribosomal RNA gene in

- Arabidopsis. Molec. Gen. Genet. 266, 546–555 (2001).
- W. R. Briggs, C. F. Beck, A. R. Cashmore, J. M. Christie, J. Hughes, J. A. Jarillo, T. Kagawa, H. Kanegae, E. Liscum, A. Nagatani, K. Okada, M. Salomon, W. Reiger, T. Sakai, M. Takano, M. Wada, J. C. Watson: The phototropin family of photoreceptors. Plant Cell 13, 993–997 (2001)
- Sumie Ishiguro, Akiko Kawai-Oda, Junichi Ueda, Ikuo Nishida, Kiyotaka Okada: The DEFECTIVE IN ANOTHER DEHISCENCE1 gene encodes a novel phospholipase A1 catalyzing the initial step of jasmonic acid biosynthesis, which synchronizes pollen maturation, anther dehiscence, and flower opening in Arabidopsis. Plant Cell 13, 2191–2209 (2001)
- Noritaka Matsumoto & Kiyotaka Okada: A homeobox gene, PRESSED FLOWER, regulates lateral axis-dependent development of Arabidopsis flowers. Genes & Development 15, 3355–3364 (2001)
- Tanaka H., Onouchi H., Kondo M., Hara-Nishimura I., Nishimura M., Machida C. and Machida Y.: A subtilisin-like serine protease is required for epidermal surface formation in Arabidopsis embryos and juvenile plants. Development 128, 4681–4689 (2001)
- Higashiyama T., Yabe S., Sasaki N., Nishimura Y., Miyagishima S., Kuroiwa H., Kuroiwa T. Pollen tube attraction by the synergid cell. Science 293, 1480–1483 (2001).
- Miyagishima S., Takahara M., Mori T., Kuroiwa H., Higashiyama T., Kuroiwa T. Plastid division is driven by a complex mechanism that involves differential transition of the bacterial and eukaryotic division rings. Plant Cell 13, 2257–2268 (2001).
- Sumie Ishiguro, Yuhko Watanabe, Natsuko Ito, Hideko Nonaka, Norimasa Takeda, Tomoko Sakai, Hiroshi Kanaya and Kiyotaka Okada: SHEPHERD is the Arabidopsis GRP94 responsible for the formation of functional CLAVATA proteins. EMBO J. 21, 898–908 (2002)
- Eiko Kanaya, Noboru Nakajima, Kiyotaka Okada: Non-sequence-specific DNA binding by the Filamentous flower protein from Arabidopsis thaliana is reduced by EDTA. J. Biol. Chem. 277, 11957–11964 (2002)
- Tokitaka Oyama, Yoshiro Shimura, Kiyotaka Okada: The IRE gene encodes a protein kinase homologue and modulates root hair growth in Arabidopsis. Plant J. 30, 289–299 (2002)
- Nobuyuki Takahashi, Nobuharu Goto, Kiyotaka Okada and Hideyuki Takahashi: Hydrotropism in abscisic acid, wavy, and gravitropic mutants of Arabidopsis thaliana. Planta 216, 203–211 (2002)
- Takuji Wada, Tetsuya Kurata, Rumi Tominaga, Yoshihiro Koshino, Tatsuhiko Tachibana, Koji Goto, M. David Marks, Yoshiro Shimura and Kiyotaka Okada: Role of the positive regulator of root hair development, CAPRICE, in the epidermal cell differentiation of Arabidopsis root. Development 129, 5409–5419 (2002)
- S. Schellmann, A. Schnittger, V. Kirik, T. Wada, K. Okada, A. Beermann, J. Thumfahrt, G. Jurgens and M. Hulskamp: TRPTYCHON and CAPRICE mediate lateral inhibition during trichome and root hair patterning in Arabidopsis. EMBO J. 21, 5036–5046 (2002)
- Tanaka H., Watanabe M. Watanabe D., Tanaka T., Machida C. and Machid Y.: ACR4, a putative receptor kinase gene of *Arabidopsis thaliana* that is expressed in the outer cell layers of embryos and plants, is involved in proper embryogenesis. Plant and Cell Physiology 43, 419–428 (2002)
- Iwakawa H., Ueno Y., Semiarti E., Onouchi H., Kojima S., Tsukaya H., Hasebe Y., Soma T., Ikezaki M., Machida C., and Machida Y.: The ASYMMETRIC LEAVES2 gene of *Arabidopsis thaliana*, required for formation of a symmetric flat leaf lamina, encodes a member of a novel family of proteins characterized by cysteine repeats and a leucine zipper. Plant and Cell Physiology 43, 467–478 (2002)

- Nishimura Y., Misumi O., Kato K., Inada N., Higashiyama T., Momoyama Y., Kuroiwa T. An mt+ gamete-specific nuclease that targets mt- chloroplasts during sexual reproduction in *C. reinhardtii*. *Genes Develop.* 16, 1116–1128 (2002).
- Kuroiwa H., Nishimura Y., Higashiyama T., Kuroiwa T. Pelargonium embryogenesis: cytological investigations of organelles in early embryogenesis from the egg to the two-celled embryo. *Sex Plant Reprod.* 15, 1–12 (2002).
- Katsunori Hatakeyama, Sumie Ishiguro, Kiyotaka Okada, Takeshi Takasaki, Kokichi Hinata: Antisense inhibition of a nuclear gene, BrDAD1, in *Brassica* causes male sterility that is restorable with jasmonic acid treatment. *Molecular Breeding* 11, 325–336 (2003)
- Akiko Harada, Tatsuya Sakai, Kiyotaka Okada: phot1 and phot2 mediate blue light-induced transient increase in cytosolic Ca<sup>2+</sup> in different manners in *Arabidopsis* leaves. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100, 8583–8588 (2003)
- Tetsuya Kurata, Chie Kawabata-Awai, Eiji Sakuradani, Sakaru Shimizu, Kiyotaka Okada, Takuji Wada: The YORE-YORE gene regulates multiple aspects of epidermal cell differentiation in *Arabidopsis*. *Plant J.* 36, 55–66 (2003)
- Keiro Watanabe and Kiyotaka Okada: Two discrete cis elements control the abaxial side-specific expression of the FILAMENTOUS FLOWER gene in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 15, 2592–2603 (2003)
- Taisuke Nishimura, Etsuo Yokota, Takuji Wada, Teruo Shimmen and Kiyotaka Okada: An *Arabidopsis* ACT2 dominant-negative mutation, which disturbs F-actin polymerization, reveals its distinctive function in root development. *Plant & Cell Physiology* 44, 1131–1140 (2003)
- Ishikawa T., Machida C., Yoshioka Y., Kitano H., and Machida Y.: The *GLOBULAR ARREST1* gene, which is involved in biosynthesis of folates, is essential for embryogenesis in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.* 33, 235–244 (2003)
- Shpak, E. D., Lakeman, M. B., and Torii, K. U. Dominant-negative receptor uncovers redundancy in the *Arabidopsis* ERECTA leucine-rich repeat receptor-like kinase signaling pathway that regulates organ shape. *Plant Cell* 15, 1095–1110 (2003)
- Miyagishima S., Nishida K., Mori T., Matsuzaki M., Higashiyama T., Kuroiwa H., Kuroiwa T. A plant-specific dynamin-related protein forms a ring at the chloroplast division site. *Plant Cell* 15, 655–665 (2003).
- Mori T., Kuroiwa H., Higashiyama T., Kuroiwa T. Identification of higher plant GlcA, a putative morphogenesis factor of gametic cells. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 306, 564–569 (2003).
- Yagisawa F., Mori T., Higashiyama T., Kuroiwa H., Kuroiwa T. Regulation of *Brassica rapa* chloroplast proliferation *in vivo* and in cultured leaf disks. *Protoplasma* 222, 139–148 (2003).
- Seiji Takeda, Noritaka Matsumoto, Kiyotaka Okada: RABBIT EARS encoding a SUPERMAN-like zinc finger protein regulates petal and ovule development in *Arabidopsis thaliana*. *Development* 131, 425–434 (2004)
- Minako Ueda, Keisuke Matsui, Sumie Ishiguro, Ryosuke Sano, Takuji Wada, Ivan Paponov, Klaus Palme, Kiyotaka Okada: The HALTED ROOT (HLR) gene encoding the 26S proteasome subunit AtRPT2a is essential for the maintenance of *Arabidopsis* meristems. *Development* 131, 2101–2111 (2004)
- Maki Ogishi, Kensuke Saji, Kiyotaka Okada, Tatsuya Sakai: Gain-of-function analysis of blue light receptors using multiple mutants in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101, 2223–2228 (2004)

- Sayaka Inada, Maki Ohgishi, Tomoko Mayama, Kiyotaka Okada, Tatsuya Sakai: RPT2 is a signal transducer involved in phototropic response and stomatal opening in association with phot1, but not with phot2. *The Plant Cell* 16, 887–896 (2004)
- Taisuke Nishimura, Takuji Wada, Kiyotaka Okada: A key factor of transcription reinitiation, ribosomal protein L24, is involved in gynoecium development in *Arabidopsis*. *Biochemical Society Transactions* 32, 611–613 (2004)
- Karen Bohme, Yong Li, Florence Charlot, Claire Grierson, Katia Marrocco, Kyotaka Okada, Miche Laloue Fabien Nogu: The *ARABIDOPSIS COW1* gene encodes a phosphatidyl-inositol transfer protein essential for root hair tip growth. *The Plant Journal*, 40, 686–698 (2004)
- Tanaka T., Tanaka H., Watanabe M., Machida C., Machida Y.: A new method for rapid visualization of defects in leaf cuticle reveals five intrinsic patterns of surface defects in *Arabidopsis*. *Plant J.* 37, 139–146 (2004)
- Tanaka H., Ishikawa M., Kitamura S., Takahashi Y., Soyano T., Machida C., and Machida. Y.: The *AtNACK1/HINKEL* and *STUD/TETRASPORE/AtNACK2* genes, which encode functionally redundant kinesins, are essential for cytokinesis in *Arabidopsis*. *Genes to Cells*, 9, 1199–1211 (2004)
- Kitakura S., Ueno Y., Terakura S., Machida C., and Machida Y.: Mechanism of proliferation of plant cells that is induced by oncogene 6b from *Agrobacterium tumefaciens*: interaction of the 6b protein with a putative transcription factor in tobacco cells. *Endocytobiosis and Cell Research*. 15, 170–180 (2004)
- Watanabe M., Tanaka H., Machida C., Watanabe D., and Machida Y.: The ACR4 receptor-like kinase is required for surface formation of epidermis-related tissues in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.* 39, 298–308 (2004)
- Shpak, E. D., Berthiaume, C. T., Hill, E. J., and Torii, K. U. Synergistic interaction of three ERECTA-family receptor-like kinases controls *Arabidopsis* organ growth and flower development by promoting cell proliferation. *Development* 131: 1491–1501 (2004)
- Sasaki N., Kuroiwa H., Nishitani C., Takano H., Higashiyama T., Kobayashi T., Shirai Y., Sakai A., Kawano S., Murakami-Murofushi K., Kuroiwa T. Glom is a novel mitochondrial DNA packaging protein in *Physarum polycephalum* and causes intense chromatin condensation without suppressing DNA functions. *Mol. Biol. Cell* 14, 4758–4769 (2003).
- Matsuzaki M., Misumi O., Shin-i T., Maruyama S., Takahara M., Miyagishima S., Mori T., Nishida K., Yagisawa F., Nishida K., Yoshida Y., Nishimura Y., Nakao S., Kobayashi T., Momoyama Y., Higashiyama T., Minoda A., Sano M., Nomoto H., Oishi K., Hayashi H., Ohta F., Nishizaka S., Haga S., Miura S., Morishita T., Kabeya Y., Terasawa K., Suzuki Y., Ishii Y., Asakawa S., Takano H., Ohta N., Kuroiwa H., Tanaka K., Shimizu N., Sugano S., Sato N., Nozaki H., Ogasawara N., Kohara Y., Kuroiwa T. Genome sequence of the ultra-small unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae* 10D. *Nature* 428, 653–657 (2004).
- Nozaki H., Matsuzaki M., Misumi O., Kuroiwa H., Hasegawa M., Higashiyama T., Shin-I T., Kohara Y., Ogasawara N., Kuroiwa T. Cyanobacterial genes transmitted to the nucleus before divergence of red algae in the chromista. *J. Mol. Evol.* 59, 103–113 (2004).
- Susumu Mochizuki, Akiko Harada, Takuji Wada, Sumie Ishiguro, Kiyotaka Okada, Tatsuya Sakai: The *Arabidopsis WAV2* protein modulates root bending in response to environmental stimuli. *Plant Cell* 17, 537–547 (2005)

- Yoshihiro Koshino-Kimura, Takuji Wada, Tatsuhiko Tachibana, Ryuji Tsugeki, Sumie Ishiguro, Kiyotaka Okada: Regulation of CAPRICE transcription by Myb proteins for epidermis differentiation in Arabidopsis. *Plant & Cell Physiology* 46, 817–826 (2005)
- Linda C. Enns, Masahiro M. Kanaoka, Keiko U. Torii, Luca Comai, Kiyotaka Okada and Robert E. Cleland: Two callose synthases, GSL1 and GSL5, play an essential and redundant role in plant and pollen development and in fertility. *Plant Molec. Biol.* 58, 333–349 (2005).
- Masahiro M. Kanaoka, Sinisa Urban, Matthew Freeman, Kiyotaka Okada: An Arabidopsis rhomboid homolog is an intramembrane protease in plants. *FEBS Letters* 579, 5723–5728 (2005)
- Taisuke Nishimura, Takuji Wada, Kotaro T. Yamamoto, Kiyotaka Okada: The Arabidopsis STV1 protein, responsible for translation reinitiation, is required for auxin-mediated organ patterning. *The Plant Cell* 17, 2940–2953 (2005)
- Tetsuya Kurata, Tetsuya Ishida, Chie Kawabaa-Awai, Masahiro Noguchi, Sayoko Hattori, Ryosuke Sano, Ryoko Nakasaka, Rumi Tominaga, Yoshihiro Koshino-Kimura, Tomohiko Kato, Shusei Sato, Satoshi Tabata, Kiyotaka Okada, Takuji Wada: Cell-to-cell movement of the CAPRICE protein in the Arabidopsis root epidermal cell differentiation. *Development* 132, 5387–5398 (2005)
- Shpak, E. D., McAbee, J. M., Pillitteri, L. J., and Torii, K. U. Stomatal patterning and differentiation by synergistic interactions of receptor kinases. *Science* 309, 290–293 (2005)
- Enns, L. C., Kanaoka, M. M., Torii, K. U., Comai, L., Okada, K., and Cleland, R. E. Two callose synthases, GSL1 and GSL5, play an essential and redundant role in plant and pollen development and in fertility. *Plant Molecular Biology* (2005)
- Woodward, C., Bemis, S. M., Hill, E. J., Sawa, S., Koshiba, T., and Torii, K. U. Interaction of auxin and ERECTA in elaborating Arabidopsis inflorescence architecture revealed by the activation-tagging of a new member of the YUCCA-family putative flavin monooxygenases. *Plant Physiology* 139, 192–203 (2005)
- Nozaki H., Matsuzaki M., Misumi O., Kuroiwa H., Higashiyama T., Kuroiwa T. Phylogenetic implications of the cad complex from the primitive red alga *Cyanidioschyzon merolae*. *J. Phycol.* 41, 652–657 (2005).
- Takashi Kuromori, Takuji Wada, Asako Kamiya, Masahiro Yuguchi, Takuro Yokouchi, Yuko Imura, Hiroko Takabe, Tetsuya Sakurai, Kenji Akiyama, Takashi Hirayama, Kiyotaka Okada, Kazuo Shinozaki: A trial of genome analysis using 4000 Ds-insertional mutants in gene-coding regions of Arabidopsis. *Plant J.* 47, 640–651 (2006)
- Terakura S., Kitakura S., Ishikawa M., Ueno Y., Fujita T., Machida C., Wabiko H., and Machida Y.: Oncogene 6b from Agrobacterium tumefaciens induces abaxial cell division at late stages of leaf development and modifies vascular development in petioles. *Plant and Cell Physiology* 47, 664–672 (2006)
- Pillitteri, L. J., Sloan, D. B., Bogenschutz, N. L., and Torii, K. U. Termination of asymmetric cell division and differentiation of stomata. *Nature* doi:10.1003/nature05467, in press
- Nishimura Y., Yoshinari T., Naruse K., Yamada T., Sumi K., Mitani H., Higashiyama T., Kuroiwa T. Active digestion of sperm mitochondrial DNA in single living sperm revealed by optical tweezers. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103, 1382–1387 (2006).
- Higashiyama T., Inatsugi R., Sakamoto S., Sasaki N., Mori T., Kuroiwa H., Nakada T., Nozaki H., Kuroiwa T., Nakano A. Species specificity of the pollen tube attractant derived from the synergid cell

- of *Torenia fournieri*. Plant Physiol. 142, 481–491 (2006).
- S. Kanno and H. Rai, T. Ohya, Y. Hayashi, K. Tanoi, T. M. Nakanishi: Real-time imaging of radioisotope labeled compounds in a living plant. J. Radioanalytical Nuclear Chemistry, 272 (2007 in press)

## (2) その他の著作物

- 対談集 先端バイオの先を読む トップサイエンティストたちの知的格闘 共立出版 (ISBN 4-320-05583-7) (2001)
- 細胞工学別冊植物細胞工学シリーズ 15 新版モデル植物の実験プロトコール 遺伝学的手法 からゲノム解析まで (岡田清孝, 島本 功編) (ISBN 4-87962-234-6) 251 ページ 秀潤社 (2001)
- 太田真由美, 岡田清孝: 根の形成 朝倉植物生理学講座第4巻 福田裕穂 編集 成長と分化 144–155 ページ 2001 ISMBN4-254-17658-9
- 岡田清孝: シロイヌナズナ 2010年プロジェクト (塚谷裕一 企画) 植物学がわかる 朝日ムック 161–164 ページ 2001
- 和田拓治, 岡田清孝: 植物の形づくり②根 AERA Mook 「植物がわかる」 14–17 (2001)
- 岡田清孝: 第2の開花期を迎えたシロイヌナズナ 細胞工学 21, 69–73 (2001)
- 松本任孝・岡田清孝: 花の器官形成—花と花器官におけるパターン形成—植物ゲノム機能のダイナミズム 転写因子による発現制御 (岩淵雅樹／篠崎一雄 編) シュプリンガー・フェアラーク東京 73–80 (2001)
- 和田拓治・岡田清孝: 表皮細胞の分化
- 植物ゲノム機能のダイナミズム 転写因子による発現制御 (岩淵雅樹／篠崎一雄編) (ISBN4-431-70943-6) 256 ページ シュプリンガー・フェアラーク東京 (2001)
- 蛋白質核酸酵素増刊号「植物の形づくり」 (岡田清孝, 島本 功, 中村研三, 福田裕穂, 町田泰則 編) (ISBN 0039-9450) 2002年9月号増刊 Vo. 47 No. 12 326 ページ 共立出版 (2002)
- 松井啓祐, 植田美奈子, 岡田清孝: 根端分裂組織—根端分裂組織の維持に関わる制御因子—蛋白質核酸酵素増刊号「植物の形づくり」 (岡田清孝, 島本 功, 中村研三, 福田裕穂, 町田泰則 編) 47, 1530–1534 (2002)
- 松本任孝, 渡辺恵郎, 岡田清孝: 軸に依存した器官形態形成 蛋白質核酸酵素増刊号「植物の形づくり」 (岡田清孝, 島本 功, 中村研三, 福田裕穂, 町田泰則 編) 47, 1564–1569 (2002)
- 和田拓治, 岡田清孝: シロイヌナズナの根毛とトライコームの形成 蛋白質核酸酵素増刊号「植物の形づくり」 (岡田清孝, 島本 功, 中村研三, 福田裕穂, 町田泰則 編) 47, 1599–1604 (2002)
- 武田征士・岡田清孝: 植物のパターン形成
- 生物のボディープラン (上野直人／黒岩 厚編) (ISBN4-320-05561-6) 163–185 ページ 共立出版 (2002)
- 町田千代子: 植物の形造り: 葉の組み立て. 明日を拓く植物科学. 光りエネルギーを生物エネルギーにかえる植物の設計図を読む. 第16回「大学と科学」公開シンポジウム講演収録集. クバプロ 38–47 (2002)
- 町田千代子・上野宜久・町田泰則: 葉の形成 植物ゲノム機能のダイナミズム: 転写因子による発現制御 (監修:岩淵雅樹・篠崎一雄) シュプリンガー・フェアラーク東京 pp 46–56 (2002)
- 上野宜久・町田千代子・町田泰則: 葉の発生分化における左右相称性と扁平性の制御機構. 植物の形づくり: 遺伝子から見た分子メカニズム (編集:岡田清孝・町田泰則・島本 功・福田裕穂・中村研三) 蛋白質核酸酵素 2002年9月号増刊, 1570–1575 (2002)

- Higashiyama T. The synergid cell: attractor and acceptor of the pollen tube for double fertilization. *J. Plant Res.* 115, 149–160 (2002).
- 東山哲也. 植物の受精のしくみを解明. *遺伝* 56, 20–21 (2002).
- 東山哲也. 受精のガイダンス機構. *蛋白質核酸酵素* 47, 1645–1650 (2002).
- 東山哲也, 黒岩晴子. 受精とオルガネラ. *植物細胞工学* 17, 150–154 (2002).
- 東山哲也. トレニア. *細胞工学* 21, 1530–1531 (2002).
- 東山哲也. 体外受精に初めて成功し, 植物の受精のしくみを解明. *ウロボロス* 7, 7–8 (2002).
- Keiro Watanabe, Noritaka Matsumoto, Shunji Funaki, Ryuji Tsugeki, Kiyotaka Okada: Axis-dependent regulation of lateral organ-development in plants. In *Morphogenesis and Pattern Formation in Biological Systems—Experiments and Models—* (edited by T. Sekimura, S. Noji, N. Ueno, and P. K. Maini.) Chapter 14, pp. 165–176, Springer-Verlag, ISBN 4-431-00644-3 (2003).
- 木村泰裕・岡田清孝: 植物発生における細胞間シグナリング 化学工業 54(7), 500–506 (2003)
- 清水健太郎: 花から学ぶ形態・進化の法則性—遺伝子から生態系まで— 生物の形の多様性と進化 (関村利朗, 野地澄晴, 森田利仁 編) 137–151 ページ 裳華房 (2003).
- Machida C., Ueno Y. and Machida Y.: Function of the *ASYMMETRIC LEAVES1* and *ASYMMETRIC LEAVES2* genes in leaf development of *Arabidopsis*. *Plant Morphology* 15, 30–39 (2003)
- Machida C., Iwakawa H., Ueno, Y., Semiarti E., Tsukaya H., Hasebe M. Kojima S. and Machida Y.: “Morphogenesis and Pattern Formation in Biological Systems—Experiments and Models—” edited by T. Sekimura, S. Noji, N. Ueno, and P. K. Maini. Published by Springer-Verlag Tokyo, pp 177–187 (2003)
- Torii, K. U., Hanson, L. A., Josefsson, C. A. B., and Shpak, E. D. Regulation of inflorescence architecture and organ shape by the *ERECTA* gene in *Arabidopsis*. In *Morphology and Pattern Formation in Biological Systems*, T. Sekimura, ed., Springer-Verlag, Tokyo. pp. 153–164 (2003)
- Higashiyama T., Kuroiwa H., Kuroiwa T. Pollen tube guidance: beacons from the female gametophyte. *Curr. Opin. Plant Biol.* 6, 36–41 (2003).
- 植物の環境応答と形態形成のクロストーク (岡 穆宏, 岡田清孝, 篠崎一雄 編) (ISBN4-431-71030-2) シュプリンガー・フェアラーク東京 (2004)
- 酒井達也・岡田清孝・高野 誠: 光屈性
- 植物の環境応答と形態形成のクロストーク (岡 穆宏, 岡田清孝, 篠崎一雄 編) (ISBN4-431-71030-2) 2004年1月刊 シュプリンガー・フェアラーク東京 (2004)
- Torii, K. U. Leucine-rich repeat receptor kinases in plants: Structure, function and signal transduction. *International Review of Cytology* 234, 1–46 (2004)
- 東山哲也. 高等植物の受精における物質の関与. *植物の生長調節* 39, 35–41 (2004).
- 東山哲也. マイクロインジェクション, ビデオ顕微鏡. 新版 植物の細胞を観る実験プロトコール, 88–94 (2004).
- Minako Ueda, Yoshihiro Koshino-Kimura, and Kiyotaka Okada: Root Development~Stepwise Understanding of Root Patterning~ Current Opinion in Plant Biology 8, 71–76 (2005).
- Tetsuya Kurata, Kiyotaka Okada, Takuji Wada: Intercellular movement of transcription factors. Current Opinion in Plant Biology 8, 600–605 (2005)
- 細胞工学別冊植物細胞工学シリーズ 21 改訂3版 モデル植物の実験プロトコール—イネ・シロイヌナズナ・ミヤコグサ編— (島本 功, 岡田清孝, 田畑哲之 編) (ISBN4-87962-286-9) 324 ページ 秀潤社 (2005)

植物の生化学・分子生物学 (Bob B. Buchanan, Wilhelm Gruisse, Russell L. Jones, eds. 杉山達夫監修, 岡田清孝・内藤哲・中村研三・長谷俊治・福田裕穂・前島正義 監訳) (ISBN4-7622-3040-5) 学会出版センター 1230 ページ (2005)

榎木竜二・木村泰裕・岡田清孝: GUS 植物細胞工学シリーズ 21 「モデル植物の実験プロトコール」改訂 3 版 島本功・岡田清孝・田畠哲之監修 181–185 ページ 秀潤社 (2005)

田中博和・町田千代子・町田泰則 トルイジンブルー法—シロイヌナズナの表皮の異常を検出する「改訂 3 版モデル植物の実験プロトコール」(監修 岡田清孝他) 細胞工学別冊植物細胞工学シリーズ 21, 70–71 (2005)

岩川秀和・町田泰則・町田千代子 マップベースクローニング「改訂 3 版モデル植物の実験プロトコール」(監修 岡田清孝他) 細胞工学別冊植物細胞工学シリーズ 21, 116–120 (2005)

小島晶子・町田泰則・町田千代子 植物形態形成における体軸決定の仕組み「発生システムのダイナミクス」(編集: 上野直人・八杉貞雄・野地澄晴)「蛋白質・核酸・酵素」増刊号 50, 724–730 (2005)

鳥居啓子 気孔のパターン形成と分化—細胞間シグナル伝達機構の新知見 蛋白質核酸酵素 51, 145–154 (2006)

Higashiyama T., Inatsugi R. Comparative analyses of biological models used in the study of pollen tube growth. *Plant Cell Monogr.* 3, 265–286 (2006).

稻継理恵, 東山哲也, 上田貴志. 顕微鏡の概要—技術発展の歴史と各種顕微鏡の用途. 新版 植物の細胞を観る実験プロトコール, 26–30 (2006).

稻継理恵, 東山哲也, 上田貴志. 光学顕微鏡の使い方. 新版 植物の細胞を観る実験プロトコール, 31–34 (2006).

東山哲也. 受精のメカニズム. *プラントミメティクス*, 413–418 (2006).

東山哲也. 体外受精. *プラントミメティクス*, 419–423 (2006).

東山哲也, 澤進一郎. 植物の発生と形態形成. バイオサイエンス, 印刷中.

Torii, K. U. Communication, fate, and decision making during stomatal development. 日本女性科学者の会学術誌 7: in press (2007)

### (3) 学会発表 (国際学会発表及び主要な国内学会発表)

#### ①招待講演 (国内会議 31 件, 国際会議 17 件)

Kiyotaka Okada, Noritaka Matsumoto, Seiji Takeda, Keiro Watanabe (2001) Axis-dependent development of lateral organs in plants. 14th International Congress of Developmental Biology, July 8–12, Kyoto International Conference Hall.

Masahiro Kanaoka, Kentaro K. Shimizu, Kiyotaka Okada (2001) Analysis of kompeito, an *Arabidopsis* mutant defective in pollen wall and pollen-stigma interaction. 14th International Congress of Developmental Biology, July 8–12, Kyoto International Conference Hall.

Kiyotaka Okada (2001) Axis-dependent Regulation of Lateral Organ-Development. 2nd Japanese-German Joint Symposium “Post Genome Research in Plants”, August 21–24, Blaubeuren Fabrik-Institut, Germany

Okada K, Ogishi M., Saji K., and Sakai T.: Phototropism mutants of *Arabidopsis* (2001) 国際根研究シンポジウム 6th International Symposium of Root Research 11月 11–15 日 名古屋国際会議場

Kiyotaka Okada: Root Hair Development and Blue-Light Perception—two approaches studying extracellular signaling— (2001) Riken Plant Research Center International Symposium sponsored by Riken Plant Science Center 11月 26–27日 東京大学弥生講堂

上野宜久・荒木智史・岩川秀和・Endang Semiarti・町田千代子・町田泰則：正常な葉身や葉脈の形成に必須な遺伝子産物 ASYMMETRIC LEAVES2 の機能 2001年12月. 第24回日本分子生物学会年会 ワークショップ「シグナル分子を介した植物の体作りの分子機構」(於横浜)  
田中博和・廣江知紀・尾之内均・近藤真紀・塚谷裕一・渡辺 勝・田中俊洋・西村いくこ・西村幹夫・町田千代子・町田泰則：クチクラ形成と表皮細胞分化の分子遺伝学的解析 2001年12月. 第24回日本分子生物学会年会 ワークショップ「植物表皮細胞の分化と機能」(於横浜)

Kiyotaka Okada, Noritaka Matsumoto, Keiro Watanabe, Syunji Funaki, Ryuji Tsugeki: Axis-dependent development of lateral organs (2002) 13th International Conference on Arabidopsis Research, June 28–July 2, Palacio de Exposiciones y congresos, Sevilla, Spain

Maki Ogishi, Tatsuya Sakai and Kiyotaka Okada: Expression profiling of blue light signal pathway using multiple mutants The 4th Japan-Korea joint symposium of plant sciences. Functional genomics and proteomics in response to stress (2002) Sept. 21, Kyoto University, Kyoto, Japan

Kiyotaka Okada: Axis-dependent regulation of lateral organ-development. International Conference on Morphogenesis and Pattern formation in Biological Systems. (2002) Sept. 24–27, Chubu University, Nagoya, Japan.

Machida Y., Ueno Y., Iwakawa H., Semiarti E., Tsukaya H., Soma T., Ogasawara F., Ikezaki M., Machida C.: The role of ASYMMETRIC LEAVES2 in Arabidopsis leaf development. August 2002. FASEB Summer Research Conference Saxtons River USA.

Machida C., Iwakawa H., Ueno Y., Semiarti E., Tsukaya H., Hasebe M. Kojima S. and Machida Y.: Formation of a symmetric flat leaf lamina in Arabidopsis. September 2002. International Conference on Morphogenesis and Pattern Formation in Biological Systems. Kasugai, Japan.

Torii, K. U. Receptor-kinase signaling and regulation of plant size. International Conference on Morphogenesis and Pattern Formation in Biological Systems-Experiments and Models-, Chubu University, Nagoya, Japan September 24–27, 2002

東山哲也「*in vitro* 重複受精系と顕微細胞操作により明らかにされた植物の受精のしくみ」特定領域研究公開シンポジウム（京都：2002年1月23日）

東山哲也「Function and behavior of two synergid cells for the successful fertilization」日本植物生理学会第43回大会シンポジウム（岡山：2002年3月28日～30日）

東山哲也, 三角修己, 森 稔幸, 黒岩晴子, 黒岩常祥「顕微操作により明かされる花粉管ガイダンスのメカニズム」日本分子生物学会第25回大会シンポジウム（横浜：2002年12月11日～14日）

Tatsuya Sakai, Akiko Harada, Sayaka Inada, Haruna Kiriyama, Tomoko Mayama, Susumu Mochizuki, Kami Ogishi, Genki Suzuki, Kiyotaka Okada: Controlling growth pattern by physical stimuli (2003)

K. Okada was a session coordinator of Session 02 (Photomorphogenesis and development in response to environmental cues) in the 7th International Congress of Plant Molecular biology, June 23–28, 2003 Palau de Congressos de Barcelona/Fira Palace Hotel, Barcelona, Spain

Tetsuya Kurata, Chie Kawabata-Awai, Ryosuke Sano, Kiyotaka Okada, Takuji Wada: Cell-to-cell movement of CPC regulates epidermis differentiation in Arabidopsis (2003)

Talk in Session 08 (Root development and adaptation to environmental factors) in the 7th International Congress of Plant Molecular biology, June 23–28, Palau de Congressos de Barcelona/Fira Palace Hotel, Barcelona, Spain

Minako Ueda, Keisuke Matsui, Takuji Wada, Sumie Ishiguro, Ivan Paponov, Klaus Palme, Kiyotaka Okada: HALTED ROOT (HLR) gene encoding the subunit 4 (AtPRT2A) of the 26S proteasome is essential to maintain the quiescent center in the *Arabidopsis* root meristem (2003)

Talk in Workshop 06 (the of of the protein turnover and the ubiquitin/26S proteasome system in plant biology) in the 7th International Congress of Plant Molecular biology, June 23–28, Palau de Congressos de Barcelona/Fira Palace Hotel, Barcelona, Spain

Kiyotaka Okada, Keiro Watanabe, Seiji Takeda, Syunji Funaki, Ryuji Tsugeki: Meristem activity required for lateral organ-development. (Invited speaker in Session 3F Plant Development) The 19th International congress of Genetics, July 6–11, 2003, Melbourne Exhibition & Convention Centre, Melbourne, Victoria, Australia

Kiyotaka Okada: Meristem activity required for lateral organ-development (2003) Workshop on Plant Molecular Biology, Nov. 5, 2003 Beijing International Convention Center, Beijing, China

町田千代子・上野宜久・町田泰則 葉の形態生成における *ASYMMETRIC LEAVES1* と *ASYMMETRIC LEAVES2* の役割. 2003年9月. 日本植物学会第67回大会シンポジウム(於札幌)

Higashiyama T., Kuroiwa H., Kuroiwa T. "Gametophytic interactions for successful fertilization of the flowering plant" International Congress on Plant Gametophyte (スイス, アスコーナ: 2003年6月8日～13日)

東山哲也, 三角修己, 黒岩晴子, 黒岩常祥 「受精を遂行する雌雄配偶体インターラクションの機構」日本植物生理学会第44回大会シンポジウム (奈良: 2003年3月27日～29日)

Taisuke Nishimura, Takuji Wada, Kiyotaka Okada: SHORT VALVE involved in gynoecium development, encodes a ribosomal protein L24, which is a key factor of translation re-initiation. 18<sup>th</sup> International Congress on Sexual Plant Reproduction. 20–24 August, 2004. Friendship Hotel, Beijing, China. (This oral presentation was awarded The H. F. Linskens Award of 2004)

Torii, K.U. Synergistic Interaction of ERECTA-family Receptor-like Kinases Control Organ Size and Cell Proliferation. 15<sup>th</sup> International Conference on *Arabidopsis* Research. Session *Shoot Development*, Berlin, Germany, July 11–14, 2004

Inatsugi R., Sakamoto S., Sasaki N., Kuroiwa T., Nakano A., Higashiyama T. "Induction of pollen tube competence to react to the attractant from the synergid cell" Frontiers in Sexual Plant Reproduction II (米国, アルバニー: 2004年10月15日～17日)

東山哲也「配偶体の機能とダイナミクスを探る」特定領域研究若手ワークショップ (木曽: 2004年11月10日～12日)

東山哲也「*in vitro* 系でみる受精のダイナミクスと介在物質群」シンポジウム「植物の生殖研究—その最前線と今後の方向—」(東京: 2004年11月22日～23日)

東山哲也「花粉管ガイダンスにおける細胞間シグナリング」シンポジウム「発生生物学のフロンティア」(京都: 2004年12月20日)

Kiyotaka Okada: Axis-dependent development of lateral organs. International Symposium on Plant Axis Formation and Signal Transduction. March 2–3, 2005. Yayoi Auditorium Ichijo Hall, The University of Tokyo. (Sponsored by Grand-in-aid for Scientific Research on Priority Areas, MEX, and Plant Function and Regulation Project of CREST, JST).

Kiyotaka Okada, Keiro Watanabe, Seiji Takeda, shunji Funaki, Yuheki Tsuchida, Taisuke Nishimura, Ryuji Tsugeki, Noritaka Matsumoto: Axis-dependent gene expression in the lateral organ formation. (invited talk) 16th International Conference on Arabidopsis Research, June 15–19, 2005, University of Wisconsin-Madison, USA

Kiyotaka Okada & Yuhei Tsuchida: Search of peptide ligands in Shoot Apical Meristem. 3<sup>rd</sup> Japanese-German Joint Symposium “New Deployment of Post Genome Research in Plants” Ishikawa High-Tech Conference Center, Ishikawa, Japan. Sept. 27–30, 2005.

Kiyotaka Okada: Intercellular signaling involved in plant organ development. 6<sup>th</sup> Kyoto University International Symposium “Plant Sciences in Japan and China—from Genomics to Breeding” Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing, China. Oct. 8–10, 2005.

Kiyotaka Okada: Fixation of the abaxial-adaxial regions in plant lateral organs. The 21st International Symposium in Conjunction with Award of the International Prize for Biology, Nov. 30–Dec. 1, 2005, Nagoya

Torii, K. U. Control of organ growth and epidermal patterning by synergistic interactions of receptor kinases. International Symposium Plant Axis Formation and Signal Transduction. Tokyo, Japan. March 2–3, 2005

東山哲也「花の中のふしぎ～植物のオスとメスの出会い～」セルフェスタ（東京：2005年7月23日～24日）

東山哲也「花粉管ガイダンスおよび受精におけるゲノム障壁の鍵因子」第107・108回日本育種学会春季・秋季合同大会 研究集会（つくば：2005年8月21日）

東山哲也、稻継理恵、中野明彦「受精にいたる花粉管ガイダンスの分子機構」第77回日本遺伝学会大会シンポジウム（東京：2005年9月25日～27日）

町田千代子・上野宜久・町田泰則 クラス1ノックスホメオボックス遺伝子と全能性. 2006年1月28日. 特定領域研究「植物の軸と情報」シンポジウム（於東京）

Torii, K. U. Linking biomass to stomatal development. 17<sup>th</sup> International Conference on Arabidopsis Research. Session *Energy*, Madison, WI June 29–July 2, 2006

Higashiyama T. “Intercellular Signaling in Pollen Tube Guidance” JSPS-UPSC colloquium on Plant Development (スウェーデン, ウメオ: 2006年6月2日)

Higashiyama T. “Cell-cell Communication in Pollen Tube Guidance” FASEB Summer Research Conference (米国, サクストンズリバー: 2006年8月5日～9日)

東山哲也「花粉管はどのようなメカニズムで胚のうに到達するのか？」第109回日本育種学会春季大会 研究集会（東京：2006年3月30日）

東山哲也「花粉管ガイダンスにおける細胞間シグナリング」国立遺伝学研究所研究集会（三島: 2006年6月30日～7月1日）

東山哲也「花粉管ガイダンスと重複受精に観る細胞間シグナリング」シンポジウム「観る生物学—バイオイメージングの最前線と植物科学への応用—」(奈良:2006年11月21日～22日)

T. M. Nakanishi: Real Time Measurement and Imaging of Water and Elements in a Living Plant. Imaging and Neutrons 2006 (IAN 2006) Workshop, Oct. 24, 2006 Oak Ridge, USA

②口頭発表 (国内会議 96件, 国際会議 5件)

武田征士, 松本任孝, 岡田清孝 (2001) 向軸側の花弁発生に異常を示す rabbit ears 突然変異体の解析 日本植物生理学会 2001年度年会および第41回シンポジウム 九州産業大学 3/23

-26/2001

- 西村泰介, 岡田清孝 (2001) シロイヌナズナ雌ずい形成に関する SHORT VALVE 遺伝子はリボソーム蛋白質 L24 ホモログをコードする 日本植物生理学会 2001 年度年会および第 41 回シンポジウム 九州産業大学 3/23–26/2001
- 松本任孝, 岡田清孝 (2001) シロイヌナズナの花原基および花器官の横軸領域で発現している PRS 遺伝子の機能解析 日本植物生理学会 2001 年度年会および第 41 回シンポジウム 九州産業大学 3/23–26/2001
- 越野泰裕, 橘 達彦, 和田拓治, 榎木竜二, 岡田清孝 (2001) シロイヌナズナの根の表皮細胞分化を制御する CPC 遺伝子のプロモーター解析 日本植物生理学会 2001 年度年会および第 41 回シンポジウム 九州産業大学 3/23–26/2001
- 植田美奈子, 松井啓祐, 和田拓治, 石黒澄衛, 岡田清孝 (2001) 根端分裂組織の維持に異常を示す halted root 突然変異体の解析 日本植物生理学会 2001 年度年会および第 41 回シンポジウム 九州産業大学 3/23–26/2001
- 金岡雅浩, 清水健太郎, 岡田清孝 (2001) 雌雄の生殖器官の相互作用に関わるシロイヌナズナ突然変異体の解析 日本植物生理学会 2001 年度年会および第 41 回シンポジウム 九州産業大学 3/23–26/2001
- 伏木田地, 榎木竜二, 岡田清孝 (2001) 胚軸と根の細胞伸長に異常のある vw331 突然変異体の解析 日本植物生理学会 2001 年度年会および第 41 回シンポジウム 九州産業大学 3/23–26/2001
- 松井啓祐, 和田拓治, 石黒澄衛, 岡田清孝 (2001) シロイヌナズナ ftr (fat root) 突然変異体の解析 日本植物生理学会 2001 年度年会および第 41 回シンポジウム 九州産業大学 3/23–26/2001
- 黒羽 剛, 1 岡田清孝, 佐藤 忍 (筑波大・生物, 1 京大・生物) (2001) アラビドプシスの根端優勢を喪失した突然変異体の単離と解析 日本植物生理学会 2001 年度年会および第 41 回シンポジウム 九州産業大学 3/23–26/2001
- 岡田清孝 植物の形を決めるルール 日本分子生物学会市民講座「生きることと遺伝子の働き」岩手県民会館 2001/5/9
- 岡田清孝 植物の器官発生における位置情報と対称軸構造 日本分子生物学会第一回春季シンポジウム「分子生物学の躍動」盛岡市つなぎ温泉ホテル紫苑 2001/5/10/12
- 岡田清孝：植物の形態変化を誘導する遺伝子制御機構を探る ミレニアム植物科学研究プロジェクト 研究成果報告会 安田生命ホール 2001/12/3–4
- 岡田清孝：シロイヌナズナ突然変異体を用いた分裂組織の形成と維持機構の解析 文部省科学研究費補助金特定領域研究「植物多細胞系」公開講演会 バルルプラザ京都 2002/1/23
- 岡田清孝：植物の姿を変える遺伝子を探る 文部科学省科学研究費補助金特定領域研究「植物の軸と情報」公開講演会 東京大学弥生講堂 2002/3/2
- 岡田清孝：根の形態形成の遺伝的解析 日本植物生理学会 2002 年度年会 シンポジウム 8 「根圏環境における植物の適応応答」岡山大学 2002/3/28–30
- 植田美奈子, 松井啓祐, 和田拓治, 石黒澄衛, 岡田清孝 : HALTED ROOT (HLR) gene encoding 26S proteosome subunit 4 maintains root apical meristems 日本植物生理学会 2002 年度年会 岡山大学 2002/3/28–30
- 武田征士, 松本任孝, 岡田清孝 : Expression analysis of the RBE gene 日本植物生理学会 2002 年度年会 岡山大学 2002/3/28–30

伏木田地, 槻木竜二, 佐藤 茂, Tomita Keiji, Ishii Tadashi, Kakegawa Koichi, 岡田清孝 : Isolation and characterization of an *Arabidopsis* VW331 mutant defective in root and hypocotyls elongation 日本植物生理学会 2002 年度年会 岡山大学 2002/3/28-30

舟木俊治, 松本任孝, 槻木竜二, 岡田清孝 : シロイヌナズナ側生器官の横側領域で発現している PRS 遺伝子の機能解析およびプロモーター解析 日本植物生理学会 2002 年度年会 岡山大学 2002/3/28-30

槻木竜二, 岡田清孝 : Isolation and characterization of *Arabidopsis* mutants affected in vascular development 日本植物生理学会 2002 年度年会 岡山大学 2002/3/28-30

西村泰介, 和田拓治, 佐藤修正, 加藤友彦, 田畠哲之, 岡田清孝 : 雌雄形成に関与するリボソーム蛋白質遺伝子の機能解析 日本植物生理学会 2002 年度年会 岡山大学 2002/3/28-30

岡田清孝 : 植物の器官発生と形態形成の機構について 千里ライフサイエンスセミナー 2002/6/11 千里ライフサイエンスセンター 大阪

岡田清孝 : 植物器官の形態形成における対称性の制御 高遠 MBL シンポジウム 2002/8/22-23 高遠さくらホテル

岡田清孝 : 植物分子科学におけるシロイヌナズナの役割. (シンポジウム モデル植物シロイヌナズナ—過去四半世紀の研究成果の総括とポストゲノム時代への展望—) 第 5 回日本分子生物学会年会 パシフィコ横浜 2002/12/11-14

植田美那子, 松井啓祐, 和田拓治, 石黒澄衛, 加藤友彦, 田畠哲之, 小林正智, 関 原明, 篠崎一雄, 岡田清孝 : 分裂組織の維持に異常を示すシロイヌナズナ halted root 突然変異体の解析. (ワークショップ 植物の器官構築を支える細胞増殖・分化の制御機構) 第 5 回日本分子生物学会年会 パシフィコ横浜 2002/12/11-14

金岡雅浩, 清水健太郎, 岡田清孝 : Mutation in KOMPEITO, a Rhomboid homolog, disrupts exine formation and pollen-stigma adhesion. (ワークショップ 高等植物の受粉・受精過程の分子遺伝学的解析) 第 5 回日本分子生物学会年会 パシフィコ横浜 2002/12/11-14

上野宜久・岩川秀和・小笠原史明・荒木智史・町田千代子・町田泰則 正常な葉身や葉脈の形成に必須な遺伝子産物 AS1 と AS2 は class1-KNOX の抑制因子である. 2002 年 3 月. 日本植物生理学会 2001 年度年会 (於岡山)

岩川秀和・Endang Semiarti・上野宜久・小島晶子・塙谷裕一・町田千代子・町田泰則 シロイヌナズナの葉の左右相称的形成に関わる ASYMMETRIC LEAVES2 及び A ASYMMETRIC LEAVES1 遺伝子の解析. 2002 年 3 月. 日本植物生理学会 2001 年度年会 (於岡山)

町田千代子・上野宜久・岩川秀和・Endang Semiarti・小島晶子・相馬撤平・池崎仁弥・町田泰則 シロイヌナズナの ASYMMETRIC LEAVES1, ASYMMETRIC LEAVES2 遺伝子の機能解析. 2002 年 9 月. 日本植物学会第 66 回大会 (於京都).

田中博和・廣江知紀・塙谷裕一・渡辺 勝・町田千代子・町田泰則 シロイヌナズナの表皮細胞分化の制御機構: ALE1, ALE2 遺伝子の解析. 2002 年 9 月. 日本植物学会第 66 回大会 (於京都).

渡辺 勝・田中博和・渡辺大輔・町田千代子・町田泰則 シロイヌナズナの表皮細胞分化の制御機構: ACR4 遺伝子の解析. 2002 年 9 月. 日本植物学会第 66 回大会 (於京都).

上野宜久・松本貴充・岩川秀和・Endang Semiarti・相馬撤平・池崎仁弥・町田千代子・町田泰則 正常な葉身や葉脈の形成に必須な遺伝子産物 AS1 と AS2 は class 1-KNOX の抑制因子である. 2002 年 9 月. 日本植物学会第 66 回大会 (於京都).

木村泰裕, 和田拓治, 橘 達彦, 槻木竜二, 岡田清孝 : Myb タンパク質がシロイヌナズナの

表皮細胞の CPC 遺伝子発現に必要である 日本植物生理学会 2003 年度年会 近畿大学  
2003/3/27-29

西村泰介, 横田悦郎, 和田拓治, 新免輝男, 岡田清孝 : A semi-dominant mutation in the ACT2 gene affects the root hair development in *Arabidopsis* 日本植物生理学会 2003 年度年会 近畿大学 2003/3/27-29

八木慎宜, 武田征士, 岡田清孝 : シロイヌナズナ突然変異体 fl51 を用いたがく片発生機構の解析 日本植物生理学会 2003 年度年会 近畿大学 2003/3/27-29

Takashi Kuromori, Takuji Wada, Takashi Hirayama, Hiroko takabe, Asako Kamiya, Tkuro Yokouchi, Masahiro Yuguchi, Kiyotaka Okada, Kazuo Shinozaki: A construction of transposon-insertional mutants for 1000 genes in *Arabidopsis* and a phenome analysis 日本植物生理学会 2003 年度年会 近畿大学 2003/3/27-29

岡田清孝 : レクチャー : 植物の形づくりの理解を求めて—シロイヌナズナとの出会いと展開, そして期待— 第 26 回日本分子生物学会年会 神戸ポートアイランド 2003/12/10-13

岩川秀和・Endang Semiarti・上野宜久・小島晶子・塙谷裕一・町田千代子・町田泰則 シロイヌナズナの ASYMMETRIC LEAVES1 と ASYMMETRIC LEAVES2 タンパク質は複合体を形成し, 葉の左右相称的形成を制御する. 2003 年 3 月. 日本植物生理学会 2003 年度年会 (於東大阪)

上野宜久・松本貴充・岩川秀和・中澤美紀・Endang Semiarti・相馬徹平・池崎仁弥・Endang Semiarti・塙谷裕一・市川尚斎・松井 南・町田千代子・町田泰則 ASYMMETRIC LEAVES2 遺伝子と相互作用する因子の探索. 2003 年 3 月. 日本植物生理学会 2003 年度年会(於東大阪). 石川貴章・町田千代子・町田泰則 細胞の形と茎頂部からの葉原基形成に異常がみられる embryo yellow シロイヌナズナ変異体の解析. 2003 年 3 月. 日本植物生理学会 2003 年度年会(於東大阪).

渡辺 勝・田中博和・渡辺大輔・町田千代子・町田泰則 シロイヌナズナの表皮細胞分化の制御機構 : *ACR4* 遺伝子の解析. 2003 年 3 月. 日本植物生理学会 2003 年度年会 (於東大阪).

相馬徹平・岩川秀和・上野宜久・平野美奈子・町田千代子・町田泰則 シロイヌナズナの葉の形態形成における AS1・AS2 タンパク質の協調的作用. 2003 年 9 月. 日本植物学会第 67 回大会 (於札幌)

上野宜久・中澤美紀・岩川秀和・セミルアルティ エンダン・塙谷裕一・市川尚斎・松井 南・町田千代子・町田泰則 左右相称的な葉の必須の因子 ASYMMETRIC LEAVES2 の分子遺伝学的解析. 2003 年 9 月. 日本植物学会第 67 回大会 (於札幌)

植田美那子, 松井啓祐, 石黒澄衛, 佐野亮輔, 和田拓治, Ivan Paponov, Klaus Palme, 岡田清孝 : シロイヌナズナのメリステム維持におけるプロテアソームの役割. (ワークショップ 根系形成の分子機構に関する最先端の研究) 第 45 回日本植物生理学会年会 東京都立大学 2004/3/27-29

Masahiro Kanaoka, Kentaro Shimizu, Kiyotaka Okada: KOMBEITO is essential for the sculpture of pollen wall and callose accumulation in *Arabidopsis thaliana*. 第 45 回日本植物生理学会年会 東京都立大学 2004/3/27-29

木村泰裕, 和田拓治, 橘 達彦, 槻木竜二, 岡田清孝 : シロイヌナズナの根毛形成細胞分化に関わる CPC 遺伝子の発言制御解析 第 45 回日本植物生理学会年会 東京都立大学 2004/3/27-29

堺 彩子, 佐々木智行, 槻木竜二, 岡田清孝 : シロイヌナズナ維管束エンハンサー・トラップ系

統の単離と解析 第45回日本植物生理学会年会 東京都立大学 2004/3/27-29

西村泰介, 和田拓治, 岡田清孝: ETTIN (ETT) と MONOPTEROS (MP) の upstream ORF は下流 ORF の発現を抑制する 第45回日本植物生理学会年会 東京都立大学 2004/3/27-29

岡田清孝, 金岡雅浩: 植物 Rhomboid-1 類縁遺伝子 KOM の機能について文部科学省特定領域研究「脳科学の先端的研究」A03 班分科会〈第二回  $\gamma$  セクレターゼ研究会〉「膜内蛋白分解はどのようにして起こり, 何を引き起こすのか?」2004/6/27 大阪大学コンベンションセンター

渡辺恵郎, 舟木俊治, 松本任孝, 岡田清孝: 植物における軸に沿った器官形態形成 第76回日本遺伝学会大会 シンポジウム「植物の形態形成研究の新展開」大阪大学コンベンションセンター 2004/9/27-29

Kiyotaka Okada: Analysis of axes-dependent development of lateral organs 第27回日本分子生物学会年会シンポジウム 神戸ポートアイランド 2004/12/8-11

石川貴章・町田千代子・上田貴志・中野明彦・町田泰則 ER からゴルジ体へのタンパク質の輸送に異常が見られるシロイヌナズナ *embryo yellow* 変異体の解析. 2004年3月. 第45回日本植物生理学会年会(於東京)

石川貴章・相馬徹平・上野宜久・岩川秀和・平野美奈子・小島晶子・町田泰則・町田千代子 シロイヌナズナの葉の形成過程における AS1 と AS2 タンパク質の機能. 2004年3月. 第45回日本植物生理学会年会(於東京)

池崎仁弥・上野宜久・小笠原史明・町田千代子・町田泰則 シロイヌナズナのホメオボックス遺伝子 *KNAT6* の機能解析. 2004年3月. 第45回日本植物生理学会年会(於東京)

上野宜久・荒木智史・岩川秀和・Endang Semiarti・石川貴明・塚谷裕一・町田千代子・町田泰則 シロイヌナズナの *ASYMMETRICLEAVES2* の解析. 2004年3月. 第45回日本植物生理学会年会(於東京)

町田泰則・池崎仁弥・上野宜久・町田千代子 シロイヌナズナの葉の形態形成を支配する分化メカニズム. 2004年9月. 日本植物学会第68回大会(於藤沢)

石川貴章・上野宜久・岩川秀和・相馬徹平・Endang Semiarti・町田泰則・町田千代子 シロイヌナズナの葉状器分化に関わる AS1, AS2 タンパク質の機能解析. 2004年9月. 日本植物学会第68回大会(於藤沢)

田中博和・田中俊洋, 福谷孝介・町田千代子・町田泰則 表皮の性質に異常を示す *permeable leaves* 変異体の単離と遺伝子クローニング. 2004年9月. 日本植物学会第68回大会(於藤沢)

Pillitteri, L. J., Shpak, E. D., and Torii, K. U. Control of stomatal patterning and differentiation by ERECTA-family receptor-like kinases in *Arabidopsis*. FASEB Summer Research Conference, Mechanism in Plant Development. August 7-11, 2004. Saxtons River, VT.

Torii, K. U. Synergistic Interaction of Three ERECTA-family Receptor-like Kinases Control Organ Size and Flower Development. Keystone Symposium. *Cell cycle and Development*, Snow Bird, UT, Jan 6-11, 2004

八木慎宜, 武田征士, 松本任孝, 岡田清孝: シロイヌナズナ突然変異体 fl51 を用いたがく片および花弁の発生機構の解析 第46回日本植物生理学会年会 新潟コンベンションセンター 2005/3/24-26

榎木竜二, 鶴見芳紀, 丸山 望, 岡田清孝: 葉脈パターン形成機構の分子遺伝学的解析 第46回日本植物生理学会年会 新潟コンベンションセンター 2005/3/24-26

堺 彩子, 佐々木智行, 榎木竜二, 岡田清孝: エンハンサートラップ法を用いた維管束形成

初期で働く遺伝子の探索と解析 第46回日本植物生理学会年会 新潟コンベンションセンター 2005/3/24–26

檜垣マリコ, 岡田清孝: シロイヌナズナ *itosugi* 突然変異体を用いた側枝伸長方向制御機構の解析 日本植物学会第69回大会 富山大学 2005/9/20–23

石川貴章・上野宜久・小島晶子・岩川秀和・Endang Semiarti・町田泰則・町田千代子 シロイヌナズナの ASYMMETRIC LEAVES2 遺伝子の発現調節機構. 2005年9月. 日本植物学会第69回大会(於富山)

池崎仁弥・上野宜久・小笠原史明・町田千代子・町田泰則 シロイヌナズナの *asymmetric leaves1* 変異体における *calss 1 knox* 遺伝子の役割. 2005年9月. 日本植物学会第69回大会(於富山)

McAbee, J. M., Shpak, E. D., Pillitteri, L. J. and Torii, K. U. ERECTA-family LRR-RLKs mediate epidermal patterning. Plant Biology 2005 (The Annual Meeting of the American Society of Plant Biologists). Session *Vegetative Development*, Seattle, WA. July 16–20, 2005

中田未友希, 舟木俊治, 松本任孝, 梶木竜二, 岡田清孝: 側生器官の側部の形成に関わる PRESSED FLOWER 遺伝子のプロモーター解析 第47回日本植物生理学会年会 筑波大学 2006/3/19–21

松本任孝, 武田征士, 岡田清孝: シロイヌナズナの花弁の成熟過程に異常がみられる *holded petals* 突然変異体の分子遺伝学的解析 第47回日本植物生理学会年会 筑波大学 2006/3/19–21

豊倉浩一, 渡辺恵郎, 松本任孝, 岡田清孝: 葉の向背のアイデンティティーの決定に関わる #1–63 突然変異体の解析 第47回日本植物生理学会年会 筑波大学 2006/3/19–21

石橋 桂, 梶木竜二, 岡田清孝: 葉脈パターン形成に異常を示すシロイヌナズナ突然変異体 621c-27 の解析 第47回日本植物生理学会年会 筑波大学 2006/3/19–21

田中奈々, 丸山 望, 梶木竜二, 岡田清孝: 葉脈パターン形成に異常を示すシロイヌナズナ突然変異体 3B-55 の解析 第47回日本植物生理学会年会 筑波大学 2006/3/19–21

梶木竜二, 鷺見芳紀, 岡田清孝: 葉脈形成に必要な NO VEIN 遺伝子の解析 第47回日本植物生理学会年会 筑波大学 2006/3/19–21

堺 彩子, 佐々木智行, 梶木竜二, 岡田清孝: 維管束形成の初期段階で働く遺伝子の探索 第47回日本植物生理学会年会 筑波大学 2006/3/19–21

岡田清孝: シンポジウム「ホルモンと低分子 RNAによる植物発生制御」 日本分子生物学会 2006 フォーラム「分子生物学の未来」 名古屋国際会議場 2006/12/6–8

松村葉子・相馬撤平・上野宜久・町田千代子・町田泰則 根における ASYMMETRIC LEAVES2 の機能. 2006年3月. 第47回植物生理学会年会(於筑波)

上野宜久・町田千代子・町田泰則 シロイヌナズナ ASYMMETRIC LEAVES2, ASYMMETRIC LEAVES1 およびヒストン脱アセチル化酵素は microRNA の空間的な発現制御に関与する. 2006年3月. 第47回植物生理学会年会(於筑波)

上野宜久・町田千代子・町田泰則 シロイヌナズナの ASYMMETRIC LEAVES2, ASYMMETRIC LEAVES1 およびヒストン脱アセチル化酵素は microRNA の空間的な発現制御に関与する. 2006年9月. 日本植物学会第70回大会(於熊本)

Kanaoka, M., McAbee, J. M., and Torii, K. U. ERECTA-family LRR-RLKs coordinate organ growth and epidermal patterning. Plant Receptor Signaling (The eighth annual Plant Sciences Institute Symposium) June 22–25, Ames, IA 2006.

頬 泰樹 菅野里美 大矢智幸 田野井慶太朗 中西友子 植物物質動態のリアルタイムト  
レーザー解析装置の開発 第47回日本植物生理学会年会 筑波大学 2006.3  
菅野里美 頬 泰樹 大矢智幸 田野井慶太朗 中西友子 リン酸欠乏時の植物体内における  
リン酸のリアルタイム動態解析 第47回日本植物生理学会年会 筑波大学 2006.3

③ポスター発表（国内会議 91件、国際会議 65件）

- Kuni Fushikida, Ryuji Tsugeki, Kiyotaka Okada (2001) Isolation and characterization of an *Arabidopsis* *vw331* mutant defective in root and hypocotyl elongation. 12th International Conference on *Arabidopsis* Research, June 23–27, University of Wisconsin, Madison, USA
- Keisuke Matsui, Takuji Wada, Sumie Ishiguro, Kiyotaka Okada (2001) The fat root gene is responsible for the cortical microtubule alignment during the directional cell elongation in *Arabidopsis*. 12th International Conference on *Arabidopsis* Research, June 23–27, University of Wisconsin, Madison, USA
- Kentaro K. Shimizu, Kiyotaka Okada (2001) Nucleotide changes that caused morphological evolution in diploid and tetraploid wild *Arabidopsis* species. 12th International Conference on *Arabidopsis* Research, June 23–27, University of Wisconsin, Madison, USA
- Maki Ogishi, Tatsuya Sakai, Kensuke Saji, Kiyotaka Okada (2001) Analysis of blue-light signaling pathways using a *cry1 cry2 nph1 npl1* quadruple mutant. 12th International Conference on *Arabidopsis* Research, June 23–27, University of Wisconsin, Madison, USA
- Yoshihiro Koshino, Takuji Wada, Tatsuhiko Tachibana, Ryuji Tsugeki, Kiyotaka Okada (2001) Promoter analysis of CPC for cell specific transcription in root epidermis. 12th International Conference on *Arabidopsis* Research, June 23–27, University of Wisconsin, Madison, USA
- Noritaka Matsumoto, Kiyotaka Okada (2001) PRESSED FLOWER promotes the proliferation in L1 cells of the lateral region of a flower and floral organs. 12th International Conference on *Arabidopsis* Research, June 23–27, University of Wisconsin, Madison, USA
- Taisuke Nishimura, Takuji Wada, Kiyotaka Okada (2001) SHORT VALVE, a gene encoding a ribosomal protein L24 homolog is involved in the gynoecium and flower bud development. 12th International Conference on *Arabidopsis* Research, June 23–27, University of Wisconsin, Madison, USA
- Minoko Ueda, Keisuke Matsui, Takuji Wada, Sumie Ishiguro, Kiyotaka Okada (2001) HALTED ROOT (HLR) gene encoding 26S proteasome subunit 4 maintains root apical meristem. 12th International Conference on *Arabidopsis* Research, June 23–27, University of Wisconsin, Madison, USA
- Keiro Watanabe, Kiyotaka Okada (2001) Analysis of FILAMENTOUS FLOWER expression pattern using the GFP marker in *Arabidopsis*. 12th International Conference on *Arabidopsis* Research, June 23–27, University of Wisconsin, Madison, USA
- Masahiro Kanaoka, Kentaro K. Shimizu, Kiyotaka Okada (2001) KOMPEITO is required for exine formation and pollen-stigma adhesion in *Arabidopsis*. 12th International Conference on *Arabidopsis* Research, June 23–27, University of Wisconsin, Madison, USA
- Taisuke Nishimura, Takuji Wada, Kiyotaka Okada (2001) Disruption of a gene encoding a ribosomal protein L24 homolog results in defects of gynoecium development in *Arabidopsis*. 14th International Congress of Developmental Biology, July 8–12, Kyoto International Conference Hall.
- Noritaka Matsumoto, Kiyotaka Okada (2001) PRESSED FLOWER promotes the cell proliferation of the lateral region of a flower and floral organs in *Arabidopsis*. 14th International Congress of

Developmental Biology, July 8–12, Kyoto International Conference Hall.

松本任孝, 岡田清孝 (2001) PRESSED FLOWER 遺伝子はシロイヌナズナにおける横軸依存的な発生機構に関する 第24回日本分子生物学会年会 パシフィコ横浜 2001/12/9–12

金谷栄子, 渡辺恵郎, 中島 登, 岡田清孝, 志村令郎 (2001) シロイヌナズナの生者調節因子 FIL の自己集合について 第24回日本分子生物学会年会 パシフィコ横浜 2001/12/9–12

金岡雅浩, 清水健太郎, 岡田清孝 (2001) 花粉—柱頭間接着と花粉の外部形態に異常の見られるシロイヌナズナ突然変異体の解析 第24回日本分子生物学会年会 パシフィコ横浜 2001/12/9–12

渡辺恵郎, 岡田清孝 (2001) 花芽, 花器官や葉の裏側(背軸側)でのみ発現する FILAMENTOUS FLOWER (FIL) 遺伝子を用いた向背軸形成気孔の解析 第24回日本分子生物学会年会 パシフィコ横浜 2001/12/9–12

武田征士, 松本任孝, 岡田清孝 (2001) 花弁形成に異常がある rbe トランスジェニックの原因遺伝子のクローニング及び発現解析 第24回日本分子生物学会年会 パシフィコ横浜 2001/12/9–12

岩川秀和・Endang Semiarti・上野宜久・塚谷裕一・町田千代子・町田泰則 シロイヌナズナの左右相称な葉の形成に関する ASYMMETRIC LEAVES2 (AS2), 及び, AS1 遺伝子の解析. 2001年12月. 第24回日本分子生物学会年会(於横浜)

石川貴章・吉岡 泰・町田千代子・町田泰則 「胚形成異常を示す」シロイヌナズナ *globular arrest1* 変異体の解析. 2001年12月. 第24回日本分子生物学会年会(於横浜)

太田与志津・野間健一・石川雅樹・町田千代子・町田泰則・大坪久子・大坪 栄 シロイヌナズナの LINE (ATLN) の核移行シグナル配列の存在と同定. 2001年12月. 第24回日本分子生物学会年会(於横浜)

Tokitaka Oyama, Yoshiro Shimura, Kiyotaka Okada: The IRE gene encodes a protein kinase homologue and modulates root hair growth in Arabidopsis (2002) 13th International Conference on Arabidopsis Research, June 28–July 2, Palacio de Exposiciones y congresos, Sevilla, Spain

Keiro Watanabe and Kiyotaka Okada: Expression analysis of FILAMENTOUS FLOWER using GFP in Arabidopsis (2002) 13th International Conference on Arabidopsis Research, June 28–July 2, Palacio de Exposiciones y congresos, Sevilla, Spain

Minako Ueda, Keisuke matsui, Takuji Wada, Sumie Ishiguro, Tomohiko Kato, Satoshi Tabata, Masatomo Kobayashi, Motoaki Seki, Kazuo Shinozaki, Kiyotaka Okada: HALTED ROOT (HLR) gene encoding 26S proteasome subunit 4 is essential for maintenance of root apical meristem (2002) 13th International Conference on Arabidopsis Research, June 28–July 2, Palacio de Exposiciones y congresos, Sevilla, Spain

Yoshihiro Koshino-Kimura, Takuji Wada, Tatsuhiko Tachibana, Ryuji Tsugeki, Kiyotaka Okada: Promoter analysis of CPC for cell specific transcription in root epidermis (2002) 13th International Conference on Arabidopsis Research, June 28–July 2, Palacio de Exposiciones y congresos, Sevilla, Spain

Kentaro Shimizu, Sumie Ishiguro, Kiyotaka Okada: Molecular genetic analysis of the magatama3 (maa3) mutant (2002) 13th International Conference on Arabidopsis Research, June 28–July 2, Palacio de Exposiciones y congresos, Sevilla, Spain

Masahiro Kanaoka, Kentaro Shimizu, Kiyotaka Okada: Exine patterning is disrupted by reduced callose accumulation in kompeito (2002) 13th International Conference on Arabidopsis Research, June 28–

July 2, Palacio de Exposiciones y congresos, Sevilla, Spain

Maki Ogishi, Tatsuya Sakai, Kiyotaka Okada: Analysis of blue-light signaling pathways using a cry1cry2phot1phot2 quadruple mutant (2002) 13th International Conference on Arabidopsis Research, June 28–July 2, Palacio de Exposiciones y congresos, Sevilla, Spain

武田征士, 松本任孝, 岡田清孝: 花弁形成に必要な RBE 遺伝子の機能解析 第 5 回日本分子生物学会年会 パシフィコ横浜 2002/12/11–14

西村泰介, 和田拓治, 佐藤修正, 加藤友彦, 田畠哲之, 岡田清孝: 雌雄形成に必要なリボソーム蛋白質遺伝子の機能解析 第 5 回日本分子生物学会年会 パシフィコ横浜 2002/12/11–14

Ueno Y., Iwakawa H., Semiarti E., Tsukaya H., Soma T., Ogasawara F., Ikezaki M., Machida C., and Machida Y.: The role of *ASYMMETRIC LEAVES1* and *ASYMMETRIC LEAVES2* in Arabidopsis leaf development. June, 2002. 13th International Congress on Arabidopsis Research, Selena, Spain.

Tanaka H., Hiroe T., Tsukaya H., Watanabe M., Machida C., and Machida Y.: Genes involved in proper formation of the protoderm and epidermis. June, 2002. 13th International Congress on Arabidopsis Research, Selena, Spain.

北倉左恵子・石川雅樹・我彥広悦・町田千代子・町田泰則 *Agrobacterium tumefaciens* の腫瘍形成遺伝子 6b の過剰発現は、タバコ個体において、*knox* 遺伝子の異所的発現と細胞分裂を引き起す. 2002 年 12 月. 第 25 回日本分子生物学会年会 (於横浜).

廣江知紀・田中博和・塙谷裕一・町田千代子・町田泰則 シロイヌナズナの表皮細胞形成に異常を示す *abnormal leaf shape2* (*ale2*) 変異体の分子遺伝学的解析. 2002 年 12 月. 第 25 回日本分子生物学会年会 (於横浜).

岩川秀和・上野宜久・Endang Semiarti・小島晶子・相馬徹平・塙谷裕一・町田千代子・町田泰則 シロイヌナズナの *ASYMMETRIC LEAVES1* 及び *ASYMMETRIC LEAVES2* 蛋白質の相互作用と葉の形態形成における役割 I. 2002 年 12 月. 第 25 回日本分子生物学会年会 (於横浜).

相馬徹平・岩川秀和・上野宜久・Endang Semiarti・塙谷裕一・町田千代子・町田泰則 シロイヌナズナの *ASYMMETRIC LEAVES1* 及び *ASYMMETRIC LEAVES2* 蛋白質の相互作用と葉の形態形成における役割 II. 2002 年 12 月. 第 25 回日本分子生物学会年会 (於横浜).

池崎仁弥・上野宜久・小笠原史明・町田千代子・町田泰則 シロイヌナズナのホメオボックス遺伝子 *KNAT6* の形質転換体を用いた機能解. 2002 年 12 月. 第 25 回日本分子生物学会年会 (於横浜).

Masahiro Kanaoka, Kentaro K. Shimizu, Kiyotaka Okada: KOMPEITO is required for pollen wall development and callose accumulation in Arabidopsis (2003) Conference on Plant Gametophytes 2003, Evolution, Development and Function. June 8–13, Centro Stefano Franscini, Monte Verita, Ascona, Switzerland

Haruna Kiriyama, Taisuke Nishimura, Mayumi Ohta, Miyuki Kubo, Takuji Wada, Sumie Ishiguro, Ryuji Tsugemi, Yao-Guang Liu, daisuke Shibata, Kiyotaka Okada: ROT120 encodes a putative GPI-anchored protein involved in stimulus-induced root hair elongation (2003) 14th International Conference on Arabidopsis Research, June 20–24, University of Wisconsin-Madison, Madison, Wisconsin, USA

Tetsuya Kurata, Rumi Tominaga, Kiyotaka Okada, Takuji Wada: Analysis of R3-type MYB genes for epidermal cell differentiation (2003) 14th International Conference on Arabidopsis Research, June 20–24, University of Wisconsin-Madison, Madison, Wisconsin, USA

Ryosuke Sano, ryoko Nagasaka, Kayoko Inoue, Yumiko Shirano, Hiroaki Hayashi, Daisuke Shibata,

- Shusei Sato, Tomohiko Kato, Satoshi Tabata, Kiyotaka Okada, Takuji Wada: Analysis of bHLH (MYC) genes involved in root hair and trichome differentiation (2003) 14th International Conference on Arabidopsis Research, June 20–24, University of Wisconsin-Madison, Madison, Wisconsin, USA
- Masahiro Kanaoka, Kentaro K. Shimizu, Kiyotaka Okada: KOMPEITO is important for callose accumulation and exine formation in *Arabidopsis* microgametogenesis and is localized in golgi apparatus (2003) 14th International Conference on Arabidopsis Research, June 20–24, University of Wisconsin-Madison, Madison, Wisconsin, USA
- Sayaki Inada, Tomoko Mayama, Maki Ohgishi, Kiyotaka Okada, Tatsuya Sakai: Phototropins choose signal transducers, RPT2 and NPH3, according to three different blue-light responses (2003) 14th International Conference on Arabidopsis Research, June 20–24, University of Wisconsin-Madison, Madison, Wisconsin, USA
- Takuji Wada, Ryosuke Sano, Rumi Tominaga, Kiyotaka Okada: Analysis of epidermis specific myb and bHLH genes of *Arabidopsis* (2003) 7th International Congress of Plant Molecular biology, June 23–28, Palau de Congressos de Barcelona/Fira Palace Hotel, Barcelona, Spain
- Seiji Takeda, Noritaka Matsumoto, Kiyotaka Okada: Analysis of petal-defective mutants in *Arabidopsis thaliana* (2003) 7th International Congress of Plant Molecular biology, June 23–28, Palau de Congressos de Barcelona/Fira Palace Hotel, Barcelona, Spain
- Akiko Harada, Sakai Tatsuya, Kiyotaka Okada: PHOT1 and PHOT2 mediate blue light-induced transient increase in cytosolic calcium through different pathways in *Arabidopsis* leaves (2003) 7th International Congress of Plant Molecular biology, June 23–28, Palau de Congressos de Barcelona/Fira Palace Hotel, Barcelona, Spain
- 八木慎宜, 武田征士, 岡田清孝: シロイヌナズナ突然変異体 fls1 を用い花被形成機構の解析  
第 26 回日本分子生物学会年会 神戸ポートアイランド 2003/12/10–13
- Ishikawa T., Machida C., and Machida Y.: The *embryo yellow* mutant of *Arabidopsis thaliana* exhibits a defect in the cell shape and forms many adventitious leaves in the shoot apex. 2003.6. 14<sup>th</sup> International Congress on Arabidopsis Research, Madison, USA.
- 田中博和・渡辺勝・田中俊洋・塙谷裕一・町田千代子・町田泰則 シロイヌナズナの原表皮と表皮の形成を制御する分子機構. 2003 年 12 月. 第 26 回日本分子生物学会年会 (於神戸)
- 上野宜久・岩川秀和・荒木智史・小笠原史明・石川貴章・塙谷裕一・町田千代子・町田泰則 左右相称的な葉の必須の因子 *ASYMMETRIC LEAVES2* の生物学的および生化学的機能の解析. 2003 年 12 月. 第 26 回日本分子生物学会年会 (於神戸)
- 石川貴章・町田千代子・上田貴志・中野明彦・町田泰則 細胞形態の異常と葉原基の異所的形成が見られるシロイヌナズナ *embryo yellow* 変異体の解析. 2003 年 12 月. 第 26 回日本分子生物学会年会 (於神戸)
- 池崎仁弥・上野宜久・小笠原史明・町田千代子・町田泰則 シロイヌナズナのホメオボックス 遺伝子 *KNAT6* の機能解析. 2003 年 12 月. 第 26 回日本分子生物学会年会 (於神戸)
- Shpak, E. D., Berthiaume, C. T., Lakeman, M. B., and Torii, K. U. Deciphering functional redundancy in the *Arabidopsis* ERECTA signaling pathway. Plant Phosphorylation Meeting. University of Missouri-Columbia, MO. May 28–31, 2003.
- Torii, K. U., Berthiaume, C. T., Josefsson, C., and Shpak, E. D. Regulation of plant architecture by three redundant leucine-rich repeat receptor-like kinase (LRR-RLKs) in *Arabidopsis*. Frontiers of Plant Cell Biology: Signals and pathways, systems-based approaches. University of California, Riverside, CA.

Jan 15–18, 2003.

- Shpak, E. D., Berthiaume, C. T., Lakeman, M. B., and Torii, K. U. Dominant-negative receptor uncovers redundancy in the *Arabidopsis* ERECTA signaling pathway. *Frontiers of Plant Cell Biology: Signals and pathways, systems-based approaches*. University of California, Riverside, CA. Jan 15–18, 2003.
- Noriyoshi Yagi, Seiji Takeda, Ryuji Tsugeki, Kiyotaka Okada: Analysis of sepal and petal development using fl51 mutant of *Arabidopsis* (2004) 15h International Conference on *Arabidopsis* Research, July 11–14, Estrel Hotel Berlin, Berlin, Germany
- Sumie Ishiguro, Miho Yamada, Yuka Nishimori, Kiyotaka Okada, Kenzo Nakamura: Mutations in the *Arabidopsis* FLAKY POLLEN gene cause both sporophytic and gametophytic male sterility (2004) 15h International Conference on *Arabidopsis* Research, July 11–14, Estrel Hotel Berlin, Berlin, Germany
- Tetsuya Kurata, Masahiro Noguchi, Kiyotaka Okada, Takuji Wada: FIC, a Factor Interacting with CPC, as a Putative Partner for Cell-to-Cell Movement (2004) 15h International Conference on *Arabidopsis* Research, July 11–14, Estrel Hotel Berlin, Berlin, Germany
- Ryosuke Sano, Ryoko Nagasaka, Kayoko Inoue, Yumiko Shirano, Hiroaki Hayashi, Daisuke Shibata, Shusei Sato, Tomohiko Kato, Satoshi Tabata, Kiyotaka Okada, Takuji Wada: Molecular genetic analysis of three bHLH genes involved in root hair and trichome differentiation (2004) 15h International Conference on *Arabidopsis* Research, July 11–14, Estrel Hotel Berlin, Berlin, Germany
- Tetsuya Ishida, Sayoko Hattori, Kiyotaka Okada, Takuji Wada: Analysis of TRANSPARENT TESTA GLABRA2 involved in trichome differentiation (2004) 15h International Conference on *Arabidopsis* Research, July 11–14, Estrel Hotel Berlin, Berlin, Germany
- Ryuji Tsugeki, Yoshinori Sumi, Nozomi Maruyama, Kiyotaka Okada: Genetic Analysis of Vascular Development in *Arabidopsis* (2004) 15h International Conference on *Arabidopsis* Research, July 11–14, Estrel Hotel Berlin, Berlin, Germany
- Sayaka Inada, Maki Ohgishi, Tomoko Mayama, Kiyotaka Okada, Tatsuya Sakai: RPT2 is a signal transducer involved in phototropic response and stomatal opening by association with phot1 (2004) 15h International Conference on *Arabidopsis* Research, July 11–14, Estrel Hotel Berlin, Berlin, Germany
- Kentar Shimizu, Michael D Purugganan, Kiyotaka Okada: Trichome evolution in tetraploid *Arabidopsis* (2004) 15h International Conference on *Arabidopsis* Research, July 11–14, Estrel Hotel Berlin, Berlin, Germany
- Takashi Kuromori, Takuji Wada, Masahiro Yuguchi, Takuro Yokouchi, Kiyotaka Okada, Asako Kamiya, Yuko Imura, Takashi Hirayama, Kazuo Shinozaki: Insertional mutagenesis by Ac/Ds transposon system and a phenome analysis of transposon-tagged lines in *Arabidopsis* (2004) 15h International Conference on *Arabidopsis* Research, July 11–14, Estrel Hotel Berlin, Berlin, Germany
- Karen Bohme, Yong Li, Florence Charlot, Claire Grierson, Katla Marrocco, Kiyotaka Okada, Michel Laloue, Fabien Nogue: Root hair tip growth requires the *Arabidopsis* COW1 gene which encodes a phosphatidyl inositol transfer protein. (2004) 15h International Conference on *Arabidopsis* Research, July 11–14, Estrel Hotel Berlin, Berlin, Germany
- Takuji Wada, Tetsuya Kurata, Ryosuke Sano, Rumi Tominaga, Tetsuya Ishida, and Kiyotaka Okada: Analysis of cell-to-cell movement of regulatory factors in *Arabidopsis* epidermis. 5<sup>th</sup> International Conference on Plasmodesmata 2004, August 17–21, Pacific Grove, California, USA

Taisuke Nishimura, Takuji Wada, Kiyotaka Okada: A key factor of translation re-initiation, ribosomal protein L24, is involved in gynoecium development in *Arabidopsis*. Post-transcriptional Regulation of Plant Gene Expression. Biochemical Society focused Meeting, 15–17, April, 2004, The University of East Anglia, Norwich, UK.

渡辺恵郎, 舟木俊治, 岡田清孝: FILAMENTOUS FLOWER 遺伝子を用いた向背軸形成機構の解析 第27回日本分子生物学会年会 WS 神戸ポートアイランド 2004/12/8–11

鶴見芳紀, 梶木竜二, 岡田清孝: シロイヌナズナ突然変異体 no vein を用いた葉脈形成機構の解析 第27回日本分子生物学会年会 神戸ポートアイランド 2004/12/8–11

丸山 望, 梶木竜二, 岡田清孝: 葉脈パターン形成に異常を示すシロイヌナズナ突然変異体 3B-55 の解析 第27回日本分子生物学会年会 神戸ポートアイランド 2004/12/8–11

吉森 晃, 桐山春奈, 西村泰介, 太田真由美, 久保美雪, 和田拓治, 石黒澄衛, 梶木竜二, 岡田清孝: 環境の違いに応じた根毛の伸長に関わるシロイヌナズナ TMD 遺伝子の解析 第27回日本分子生物学会年会 神戸ポートアイランド 2004/12/8–11

Tanaka H., Tanaka T., Machida C., Watanabe M., Machida Y.: Identification of permeable leaves mutants that exhibit surface defects in leaves using a new method. July, 2004. 15<sup>th</sup> International Conference on *Arabidopsis* Research. Berlin, Germany.

Tanaka H., Ishikawa M., Kitamura S., Takahashi Y., Soyano T., Machida C. and Machida Y.: The *AtNACK1* and *AtNACK2* genes, which encode functionally redundant kinesins, are essential for gametogenetic cytokinesis in *Arabidopsis thaliana*. 2004. The 4<sup>th</sup> International Symposium on the Molecular and Cell Biology of Egg- and Embryo-Coats. Shima, Mie Pref., Japan.

小島晶子・岩川秀和・上野宜久・相馬撤平・池崎仁弥・町田泰則・町田千代子 シロイヌナズナの葉の発生・分化に関わる *ASYMMETRIC LEAVES1* および *ASYMMETRIC LEAVES2* 遺伝子の発現解析. 2004年12月. 第27回日本分子生物学会年会(於神戸)

石川貴章・町田千代子・岩川秀和・上野宜久・Endang Semiarti・町田泰則 シロイヌナズナにおいて葉の発生を制御する AS1 および AS2 タンパク質の細胞内局在の解析. 2004年12月. 第27回日本分子生物学会年会(於神戸)

上野宜久・石川貴章・荒木智史・岩川秀和・Endang Semiarti・池崎仁弥・塚谷裕一・北倉左恵子・町田千代子・町田泰則 シロイヌナズナの葉の発生における *ASYMMETRIC LEAVES2* (AS2) の役割. 2004年12月. 第27回日本分子生物学会年会(於神戸)

町田千代子・上野宜久・石川貴章・池崎仁弥・小島晶子・岩川秀和・北倉左恵子・塚谷裕一・町田泰則 シロイヌナズナの葉の形成における *ASYMMETRIC LEAVES1*, *ASYMMETRIC LEAVES2* 遺伝子の役割. 2004年12月. 第27回日本分子生物学会年会(於神戸)

池崎仁弥・上野宜久・小笠原史明・町田千代子・町田泰則 シロイヌナズナの *asymmetric leaves1* 及び *asymmetric leaves2* 変異体における class 1 *knox* 遺伝子群の役割. 2004年12月. 第27回日本分子生物学会年会(於神戸)

田中博和・渡辺 勝・宏江知紀・田中俊洋・塚谷裕一・町田千代子・町田泰則 シロイヌナズナの表皮分化における *ALE1*, *ACR4*, *ALE2* 遺伝子の役割. 2004年12月. 第27回日本分子生物学会年会(於神戸)

Pillitteri, L. J., Shpak, E. D., and Torii, K. U. Role of ERECTA-family receptor-like kinases during gynoecium development. Frontiers in Sexual Plant Reproduction II. Albany, NY. October 15–17, 2004  
Shpak, E. D., Berthiaume, C. T., Hill, E. J., Pillitteri, L. J., and Torii, K. U. Synergistic Interaction of Three ERECTA-family Receptor-like Kinases Control Organ Size and Flower Development. Keystone

Symposium. *Cell cycle and Development*, Snow Bird, UT, Jan 6–11, 2004

Masahiro Kanaoka, Sinisa Urban, Matthew Freeman, Kiyotaka Okada: Molecular feature of Arabidopsis Rhomboid proteins: their subcellular localization, proteolytic activity and substrate specificity. 16th International Conference on Arabidopsis Research, June 15–19, 2005, University of Wisconsin-Madison, USA

Linda Enns, Masahiro Kanaoka, Keiko Torii, Luca Comai, Kiyotaka Okada, Robert Cleland: Two callose synthases, GSL1 and GSL5, play an essential and redundant role in plant and pollen development and in fertility. 16th International Conference on Arabidopsis Research, June 15–19, 2005, University of Wisconsin-Madison, USA

Yoshihiro Koshino-Kumura, Takuji Wada, Tatsuhiko Tachibana, Kiyotaka Okada: Direct regulation of CAPRICE and GLABRA2 transcription by WEREWOLF proteins to determine the cell fate in root epidermis: 16th International Conference on Arabidopsis Research, June 15–19, 2005, University of Wisconsin-Madison, USA

Akitomo Nagashima, Genki Suzuki, Kensuke Saji, Kiyotaka Okada, Tatsuya Sakai: Analysis of the light-induced inhibition of gravitropism in hypocotyl; the relationship between the random hypococyl-bending by light and the auxin distribution. 16th International Conference on Arabidopsis Research, June 15–19, 2005, University of Wisconsin-Madison, USA

Susumi Mochizuki, Akane Suzuki, Akiko Harada, Takuji Wada, Sumie Ishiguro, Kiyotaka Okada, Tatsuya Sakai: The Arabidopsis WAVY GROWTH3 protein harboring a RING finger motif regulates the gravitropic response of roots negatively. 16th International Conference on Arabidopsis Research, June 15–19, 2005, University of Wisconsin-Madison, USA

檜垣マリコ、岡田清孝：シロイヌナズナ itosugi 突然変異体を用いた細胞の伸長方向制御の機構 第28回日本分子生物学会年会 福岡ヤフードーム 2005/12/7–10

渡辺恵郎、岡田清孝：向背軸形成に関する遺伝子を用いた側生器官形成機構の解析 第28回日本分子生物学会年会 福岡ヤフードーム 2005/12/7–10

八木慎宜、武田征士、松本任孝、岡田清孝：EF-2 ファミリータンパク質 VAJURA はがく片および花弁の発生に関する 第28回日本分子生物学会年会 福岡ヤフードーム 2005/12/7–10

Kojima S., Iwakawa H., Ueno Y., Semiarti E., Soma T., Kuzumaki A., Tsukaya H., Machida C. and Machida Y.: Function of the *ASYMMETRIC LEAVES1* and *ASYMMETRIC LEAVES2* genes in leaf development of *Arabidopsis*. March, 2005. International symposium on PLANT AXIS FORMATION AND SIGNAL TRANSDUCTION, Tokyo.

Tanaka H., Watanabe M., Hiroe T., Tsukaya H., Machida C., Machida Y.: Genetic analysis of genes involved in differentiation of the protoderm and epidermis in *Arabidopsis thaliana*. March, 2005. International symposium on PLANT AXIS FORMATION AND SIGNAL TRANSDUCTION, Tokyo.

石川貴章・町田千代子・岩川秀和・上野宜久・北倉左恵子・Endang Semiarti・町田泰則 シロイヌナズナにおいて葉の発生を制御する AS1 および AS2 タンパク質の細胞内局在の解析。2005年3月。第47回植物生理学会年会（於新潟）

小島晶子・松村葉子・上野宜久・町田泰則・町田千代子 シロイヌナズナの葉の形態形成に関する *asymmetric leaves 2* 変異体のエンハンサーのスクリーニング。2005年3月。第47回植物生理学会年会（於新潟）

上野宜久・石川貴章・岩川秀和・北倉左恵子・池崎仁弥・杉山将宏・小島晶子・Endang

- Semiarti・町田千代子・町田泰則 シロイヌナズナ ASYMMETRIC LEAVES2 による葉の極性の確立. 2005年9月. 日本植物学会第69回大会（於富山）
- 上野宜久・松村葉子・石川貴章・町田千代子・町田泰則 シロイヌナズナの ASYMMETRIC LEAVES2 による microRNA 制御の分子遺伝学的解析. 2005年12月. 第28回日本分子生物学会年会（於福岡）
- 杉山将宏・岩川秀和・川端真一・上野宜久・石川貴章・町田千代子・町田泰則 シロイヌナズナの ASYMMETRIC LEAVES1 と ASYMMETRIC LEAVES2 蛋白質の相互作用の解析. 2005年12月. 第28回日本分子生物学会年会（於福岡）
- 松村葉子・中田恵子・岩川秀和・町田千代子・町田泰則 植物に特異的な ASYMMETRIC LEAVES2 (AS2) /LATERAL ORGAN BOUNDARIES (LOB) protein family の構造について. 2005年12月. 第28回日本分子生物学会年会（於福岡）
- 池崎仁弥・上野宜久・小笠原史明・町田千代子・町田泰則 シロイヌナズナの *asymmetric leaves1* 及び *asymmetric leaves2* 変異体における class 1 *knox* 遺伝子群の役割. 2005年12月. 第28回日本分子生物学会年会（於福岡）
- 中田恵子・松村葉子・岩川秀和・町田千代子・町田泰則 ASYMMETRIC LEAVES2 (AS2) /LATERAL ORGAN BOUNDARIES (LOB) タンパク質ファミリーの全メンバーの構造とオーキシン応答. 2005年12月. 第28回日本分子生物学会年会（於福岡）
- Lu, D., Pillitteri, L. J., and Torii, K. U. Mutagenesis and screening of *erecta erecta-like2* double mutants in Arabidopsis. *Poster session for undergraduates in Plant Physiology*. Plant Biology 2005 (The Annual Meeting of the American Society of Plant Biologists). Seattle, WA. July 16–20, 2005
- McAbee, J. M., Shpak, E. D., Pillitteri, L. J. and Torii, K. U. ERECTA-family LRR-RLKs mediate epidermal patterning. Plant Biology 2005 (The Annual Meeting of the American Society of Plant Biologists). Seattle, WA. July 16–20, 2005
- Enns, L. C., Kanaoka, M. M., Torii, K. U., Comai, L., Okada, K., and Cleland, R. E. Two callose synthases, GSL1 and GSL5, play an essential and redundant role in plant and pollen development and in fertility. 16<sup>th</sup> International Conference on Arabidopsis Research. Madison, WI. June 15–19, 2005
- Torii, K. U., Bemis, S. B., McAbee, J. M., Pillitteri, L. J., Shpak, E. D. and Sloan, D. B. Control of organ growth and epidermal patterning by synergistic interactions of receptor-like kinases. 16<sup>th</sup> International Conference on Arabidopsis Research. Madison, WI. June 15–19, 2005
- Pillitteri, L. J., and Torii, K. U. A functional ERECTA-family signaling pathway is required for normal integument development in Arabidopsis. 16<sup>th</sup> International Conference on Arabidopsis Research. Madison, WI. June 15–19, 2005
- Satomi Kanno Hiroki RaI: Real-time imaging of radioisotope labeled compounds in a living plant. Asia-Pacific Symposium on Radiochemistry 2005 (APSORC-05) October 17, 2005 Beijing, China
- 賴 泰樹 菅野里美 大矢智幸 田野井慶太朗 中西友子 植物物質動態のリアルタイムトーレーザー解析装置の開発 CREST 植物の機能と制御 第3回公開シンポジウム コクヨホール 2005.9
- 菅野里美 賴 泰樹 大矢智幸 田野井慶太朗 中西友子 VIM カメラシステムを用いた植物のリアルタイム物質動態解析 CREST 植物の機能と制御 第3回公開シンポジウム コクヨホール 2005.9
- Ayako Sakai, Tomoyuki Sasaki, Ryuji Tsugeki, Kiyotaka Okada: Identification of genes expressed during the early root vascular development in Arabidopsis. 17th International Conference on Arabidopsis

- Research, June 28–July 2, 2006, University of Wisconsin-Madison, USA
- Ryuji Tsugeki, Yoshinori Sumi, Kiyotaka Okada: NO VEIN, a gene necessary for leaf-vein formation in *Arabidopsis*. 17th International Conference on *Arabidopsis* Research, June 28–July 2, 2006, University of Wisconsin-Madison, USA
- Yoshihiro Koshino-Kimura, Haruna Kiriyama, Akira Yoshimori, Miyuki Kubo, Takuji Wada, Taisuke Nishimura, Mayumi Ohta, Sumie Ishiguro, Ryuji Tsugekik Noritaka Matsumoto, Kiyotaka Okada: A GPI-anchored protein regulates stimulus-induced root hair elongation. 17th International Conference on *Arabidopsis* Research, June 28–July 2, 2006, University of Wisconsin-Madison, USA
- Koichi Toyokura, Keiro Watanabe, Noritaka Matsumoto, Kiyotaka Okada: Analysis of a mutant, #1–63, which exhibit an abnormal expression pattern of FILAMENTOUS FLOWER. 17th International Conference on *Arabidopsis* Research, June 28–July 2, 2006, University of Wisconsin-Madison, USA
- Noriyoshi Yagi, Seiji Takeda, Noritaka Matsumoto, Kiyotaka Okada: VAJRA, an EF-2 family protein, is involved in flower development and gametophytogenesis. 17th International Conference on *Arabidopsis* Research, June 28–July 2, 2006, University of Wisconsin-Madison, USA
- Noritaka Matsumoto, Seiji Takeda, Kiyotaka Okada: FOLDED PETALS is involved in petal maturation in *Arabidopsis*. 17th International Conference on *Arabidopsis* Research, June 28–July 2, 2006, University of Wisconsin-Madison, USA
- 川森 哲, 松本任孝, 梶木竜二, 岡田清孝: シロイヌナズナ *RABBIT EARS* 遺伝子のプロモーター解析による花弁特異的発現を制御するシス因子の同定 日本分子生物学会 2006 フォーラム「分子生物学の未来」名古屋国際会議場 2006/12/6–8
- 木村泰裕, 桐山春奈, 吉森 晃, 久保美雪, 和田拓治, 西村泰介, 石黒澄衛, 梶木竜二, 松本任孝, 岡田清孝: 接触刺激に応答した根毛伸長に関与するシロイヌナズナ *TIMID* 遺伝子の解析 日本分子生物学会 2006 フォーラム「分子生物学の未来」名古屋国際会議場 2006/12/6–8
- 土田祐平, 岡田清孝: 側生器官の発生に関わるペプチド性シグナル分子のショットガン解析による探索 日本分子生物学会 2006 フォーラム「分子生物学の未来」名古屋国際会議場 2006/12/6–8
- Ishikawa T., Iwakawa H., Ueno Y., Kitakura S., Machida Y., Machida C.: Subcellular localization of AS1 and AS2 proteins that regulate leaf development in *Arabidopsis thaliana*. 2006 年 6 月. 第 20 回国際生化学分子生物学会会議 (於京都)
- Kojima S., Matsumura Y., Ueno Y., Machida Y., Machida C.: A genetic screen for new factors involved in *ASYMMETRIC LEAVES2*-mediated leaf developmental pathway. 2006 年 6 月. 第 20 回国際生化学分子生物学会会議 (於京都)
- 石川貴章・町田千代子・上田貴志・中野明彦・町田泰則 ゴルジタンパク質の局在に異常が見られるシロイヌナズナ embryo yellow 変異体の解析. 2006 年 12 月. 日本分子生物学会 2006 フォーラム (於名古屋)
- 小島晶子・松村葉子・岩崎まゆみ・上野宜久・町田泰則・町田千代子 シロイヌナズナの葉の形態形成に関わる asymmetric leaves 2 (as2) 亢進変異体のスクリーニング. 2006 年 12 月. 日本分子生物学会 2006 フォーラム (於名古屋)
- 松村葉子・小島晶子・柿本麻有・石橋奈々子・上野宜久・町田千代子 シロイヌナズナの葉の発生に関わる asymmetric leaves 2 の表現型を亢進する変異体の解析. 2006 年 12 月. 日本分子生物学会 2006 フォーラム (於名古屋)
- 柿本麻有・松村葉子・小島晶子・島田明子・上野宜久・町田千代子・町田泰則 シロイヌナズ

ナ asymmetric leaves 2 変異体の葉の向背軸形成の異常を亢進する変異体の解析. 2006年12月. 日本分子生物学会 2006 フォーラム (於名古屋)

石橋奈々子・上野宜久・町田千代子・町田泰則 シロイヌナズナ asymmetric leaves 1 (as1) および as2 変異体の表現型を亢進する変異の解析. 2006年12月. 日本分子生物学会 2006 フォーラム (於名古屋)

池崎仁弥・上野宜久・小笠原史明・町田千代子・町田泰則 シロイヌナズナの ASYMMETRIC LEAVES 1 及び ASYMMETRIC LEAVES 2 は class 1 KNOX 遺伝子群の抑制を通して葉の形態を制御する. 2006年12月. 日本分子生物学会 2006 フォーラム (於名古屋)

中田恵子・松村葉子・岩川秀和・町田千代子・町田泰則 ASYMMETRIC LEAVES 2-LIKE (ASLs) /LATERAL ORGAN BOUNDARIES-DOMAIN (LBDs) 遺伝子の構造と発現様式の研究. 2006年12月. 日本分子生物学会 2006 フォーラム (於名古屋)

杉山将宏・川端真一・岩川秀和・上野宜久・石川貴章・町田千代子・町田泰則 シロイヌナズナの ASYMMETRIC LEAVES 1 と ASYMMETRIC LEAVES 2 蛋白質の相互作用の解析. 2006年12月. 日本分子生物学会 2006 フォーラム (於名古屋)

石川貴章・岩川秀和・上野宜久・町田泰則・町田千代子 シロイヌナズナの葉の形成に関与する ASYMMETRIC LEAVES 2 遺伝子の発現制御機構の解析. 2006年12月. 日本分子生物学会 2006 フォーラム (於名古屋)

岩川秀和・高橋広夫・小島晶子・岩崎まゆみ・小林 猛・町田泰則・町田千代子 マイクロアレイ解析による扁平で左右対称的な葉の形成に関わる遺伝子の探索. 2006年12月. 日本分子生物学会 2006 フォーラム (於名古屋)

田中博和・渡辺 勝・廣江知紀・塚谷裕一・町田千代子・町田泰則 シロイヌナズナの表皮細胞の形成に関わる ALE1, ALE2, ACR4 遺伝子の機能解析. 2006年12月. 日本分子生物学会 2006 フォーラム (於名古屋)

Pillitteri, L. J., Sloan, D. B., Bogenshutz, N. L., McAbee, J. M., and Torii, K. U. Control of stomatal patterning and differentiation by ERECTA-family receptor-like kinases in *Arabidopsis*. FASEB Summer Research Conference, Mechanism in Plant Development. August 5–9, 2006. Saxtons River, VT.

Kanaoka, M., McAbee, J. M., and Torii, K. U. ERECTA-family LRR-RLKs coordinate organ growth and epidermal patterning. Plant Receptor Signaling (The eighth annual Plant Sciences Institute Symposium) Ames, IA. June 22–25, 2006

Bogenshutz, N. L., Pillitteri, L. J., Sloan, D. B., McAbee, J. M., and Torii, K. U. Elucidating the Role of Basic Helix-Loop-Helix (bHLH) Transcription Factors in Stomatal Development. 17<sup>th</sup> International Conference on *Arabidopsis* Research. Madison, WI June 29–July 2, 2006

賴 泰樹 菅野里美 大矢智幸 田野井慶太朗 中西友子 植物物質動態のリアルタイムトマグラフ解析 CREST 植物の機能と制御 第4回公開シンポジウム コクヨホール 2006.1

菅野里美 賴 泰樹 大矢智幸 田野井慶太朗 中西友子 リン酸欠乏時の植物体内におけるリン酸のリアルタイム動態解析 CREST 植物の機能と制御 第4回公開シンポジウム コクヨホール 2006.1

賴 泰樹 菅野里美 大矢智幸 田野井慶太朗 中西友子 植物物質動態のリアルタイムトマグラフ解析 CREST 植物の機能と制御 第5回公開シンポジウム 筑波大学・春日キャンパス 2006.7

菅野里美 賴 泰樹 大矢智幸 田野井慶太朗 中西友子 リアルタイム分子イメージングに

による植物体内のリン酸応答の解析 CREST 植物の機能と制御 第 5 回公開シンポジウム  
筑波大学・春日キャンパス 2006.7

頼 泰樹 菅野里美 大矢智幸 田野井慶太朗 中西友子 植物体質動態のリアルタイムト  
レーサー解析装置の開発 東京大学 生命科学研究ネットワークシンポジウム 東京大学  
安田講堂／工学部 2 号館 2006.11

#### (4) 特許出願

##### ①国内出願（6 件）

発明の名称：花粉形成に関わる遺伝子 KOM

発明者：岡田清孝，金岡雅浩，清水健太郎

出願人：科学技術振興事業団

出願日：平成 14 年 5 月 27 日

出願番号：特願 2002-185246 号

発明の名称：雌性配偶体形成に関わる遺伝子 MAA3 特許出願中

発明者：岡田清孝，清水健太郎

出願人：科学技術振興事業団

出願日：平成 14 年 5 月 27 日

出願番号：特願 2002-185184

発明の名称：植物の根毛の形成の制御に関するタンパク質、それをコードする遺伝子

発明者：岡田清孝，桐山春奈，石黒澄衛，楳木竜二

出願人：京都大学

出願日：平成 15 年 6 月 19 日

出願番号：特願 2003-175361

発明の名称：花弁の伸長に関する新規遺伝子およびその利用

発明者：岡田清孝，武田征士

出願人：京都大学

出願日：平成 16 年 11 月 1 日

出願番号：特願 2004-318518

発明の名称：植物の葉形成関連タンパク質 AS2、及びそれをコードする遺伝子

発明者：町田千代子，岩川秀和，町田泰則，岡田清孝

出願人：503360115 独立行政法人 科学技術振興機構

出願日：平成 14 年 10 月 3 日 (2002.10.3)

出願番号：特願 2002-291321 (P2002-291321)

発明の名称：生体内情報をリアルタイムで画像化するためのシステム及び方法

発明者：中西友子，頼泰樹

出願人：独立行政法人 科学技術振興機構

出願日：平成 18 年 10 月 27 日

出願番号：特願 2006-293355

②海外出願（0 件）

(5) 受賞等

①受賞

鳥居啓子 2006 第 11 回日本女性科学者の会奨励賞

②新聞報道

鳥居啓子：

毎日新聞 平成 17 年 7 月 20 日 11 面 『気孔作る遺伝子—鳥居ワシントン大助教授ら特定』

科学新聞 平成 17 年 7 月 15 日 1 面 『植物のガス交換で新知見—ワシントン大鳥居助教授らのグループ 気孔形成支配遺伝子発見』

日刊工業新聞 平成 17 年 7 月 8 日 27 面 『植物の気孔の形成支配—数を決める遺伝子発見 米ワシントン大』

化学工業新聞 平成 17 年 7 月 8 日 1 面 『植物の気孔形成解明へ前進—制御遺伝子を特定 環境保全研究ツールに活用 JST—米大』

日経産業新聞 平成 17 年 7 月 8 日 7 面 『植物の気孔形成かかわる遺伝子—科学技術振興機構など』

日経産業新聞 平成 17 年 8 月 8 日 8 面 『植物の「気孔」数決める遺伝子—米大と JST』  
共同通信 平成 17 年 7 月 8 日（オンライン版）『CO<sub>2</sub> 吸収量多い植物可能？ 気孔の数決める遺伝子』

日本経済新聞 平成 18 年 6 月 19 日 23 面 『鳥居・佐藤氏に奨励賞を贈呈—日本女性科学者の会』

毎日新聞 平成 18 年 6 月 21 日 22 面 『鳥居、佐藤両氏に日本女性科学者の会奨励賞』

③その他

鳥居啓子：

UW NEWS 2005. 7.7. Trio of plant genes prevents 'too many mouth. <http://www.uwnews.org/article.asp?articleID=11074>

科学技術振興機構報 第 184 号 平成 17 年 7 月 7 日 『植物のミクロの通気孔 気孔の形成とパターンを支配する遺伝子を発見』 <http://www.jst.go.jp/pr/info/info184/index.html>

科学技術振興機構報 第 xxx 号 平成 18 年 12 月 x 日 『植物の気孔を作り出す遺伝子を発見（作物の品種改良や環境問題の解決に期待）』

Junglecity. Com ぶらぼおな人（インタビュー）vol. 82 鳥居啓子さん ワシントン大学准教授 植物発生遺伝学 <http://www.junglecity.com;bravo/2005/1005.htm>

## (6) その他特記事項

中西友子：本研究で得られた成果により特許出願（特願 2006-293355）を行っており、これをもとに平成 18 年 11 月より装置の実用化を目的として株式会社カールツァイスとの共同研究を立ち上げており、独立行政法人 科学技術振興機構の産学共同シーズイノベーション化事業の顕在化ステージにおいてラジオアイソトープ－蛍光顕微鏡の実用化を目指して本研究の成果を引き継いだ研究を行っている。

## 7 研究期間中の主な活動

### (1) ワークショップ・シンポジウム等

年月日	名称	場所	参加人数	概要
平成 14 年 9 月 24–27 日	Morphogenesis and Pattern Formation in Biological Systems: Experiments and Theories (mpg2002)	中部大学	500 名	発表内容は、Morphogenesis and Pattern Formation in Biological Systems—Experiments and Models—”(ed. By sekimura, T., Noji S., Ueno N. Maini P. K.) Springer-Verlag Tokyo (2003) として発刊された。
平成 17 年 3 月 2–3 日	Plant Axis Formation and Signal Transduction (植物発生における軸形成とシグナル伝達)	東京大学弥生一条ホール	200 名	文部科学省特定領域研究「植物の軸と情報」(代表: 福田裕穂 東京大学大学院理学系研究科教授) と共に

国際シンポジウム「Plant Axis Formation and Signal Transduction (植物発生における軸形成とシグナル伝達)」は、外国からの研究者を 6 名と各研究室の大学院生またはポストドク研究員それぞれ 1 名（計 6 名）を招聘した。国内外の参加者は約 200 名であった。本研究グループは上記の 2 名の研究者の招聘を負担した。このシンポジウムには、日本人研究者も多数参加し、講演 13 題とポスター発表 49 題をおこない、積極的な研究交流をおこなった。

### Program

Wednesday, March 2

- 9:00–10:00 Poster set-up
- 10:00–10:10 Opening Remarks Hiroo Fukuda
- Session 1 Axis and Meristem 1
- 10:10–10:50 Masao Tasaka (Nara Institute of Science and Technoloty)  
Molecular mechanism of shoot meristem formation in *Arabidopsis*
- 10:50–11:30 Rudiger Simon (Henrich-Heine University of Dusseldorf, Germany)  
Controlling boundaries of gene expression
- 11:30–12:10 Kiyotaka Okada (Kyoto University and Riken Plant Science Center)  
Axis-dependent development of lateral organs
- 12:10–13:10 (lunch)

13:10–14:40	Poster session 1 (odd numbers)
14:40–16:10	Poster session 2 (even numbers)
16:10–16:20	(break)
Session 2 Axis and Meristem 2	
16:20–17:00	Takashi Araki (Kyoto University) FLOWERING LOCUS T is photoperiodic regulation of flowering in Arabidopsis
17:00–17:40	Ko Shimamoto (Nara Institute of Science and Technoloty) The photoperiodic regulation of flowering in rice, a short-day plant
18:00–20:00	(banquet)

Thursday, March 3

Session 3 Axis and Meristem 3

9:30–10:10	Gerd Jurgens (University of Tubingen, Germany) Apical-basal axis formation in Arabidopsis early embryogenesis
10:10–10:50	Kathryn Barton (Carnegy Institution of Washington, USA) Interplay between the cell cycle and embryonic patterning in Arabidopsis
10:50–11:30	Rob Martienssin (Cold Spring Harbor Laboratory, USA) Role of ASYMMERTIC LEAVES1 and ARGONAUTE in axis specification in the shoot
11:30–12:10	Kotaro Yamamoto (Hokkaido University, USA) Auxin signaling centering around auxin response factor (ARF) 7 and an Aux/IAA protein, IAA19
12:10–13:30	(lunch)
13:30–14:10	Ben Scheres (Utrecht University, Holland) Stem cell patterning in the Arabidopsis root meristem

Session 4 Axis and Intra- and Inter-cellular Signaling

14:10–14:50	Keiko U. Torii (University of Washington, USA) Control of organ growth and epidermal patterning by synergistic interactions of receptor-like kinases
14:50–15:30	Hiroo Fukuda (University of Tokyo and Riken Plant Science Center) Inter- and intra-cellular factors governing organization of the vascular system
15:30–15:50	(break)
15:50–16:30	Zenbiao Yang (University of California-Riverside, USA) Signaling between the ROP GTPase and the cytoskeleton controls cell polarity and morphogenesis
16:30–17:10	Yasunori Machida (Nagoya University) The kinesin-regulated MAP kinase cascade for plant cytokinesis
17:10–17:20	Closing remarks Yasunori Machida

## 8 結び

5年半にわたる研究支援に厚く御礼申しあげます。本研究は、我々研究グループにとって二重の意義がありました。一つは、長期にわたる研究費用が保証されたために、網羅的なペプチド解析という新たな研究手法を立ち上げ、軌道に乗るまでに育てることができたことであり、もう一つは、新たに研究グループを立ち上げた若手研究者や女性研究者の研究を支援することができたことです。新たに研究を立ち上げ、高いレベルの研究を開始するためには、優秀な研究員の参加が必要ですが、本研究によって優秀な研究員を多数雇用することができました。

当初の研究目的とこれまでに得られた研究成果とを比較検討すると、いくつかの反省がありますが、おおむね計画に従って遂行できたと思います。特に、初年度に研究費を前倒しして高額な共焦点レーザー顕微鏡を購入することができたことは、その後の研究の展開に大きく役立ちました。このような研究費の使い方を認めていただき、感謝しています。また、食用カリフラワーの栽培については京都大学農学研究科の圃場を使わせていただいた。谷坂隆俊教授および奥野裕助教授に感謝します。（岡田清孝）



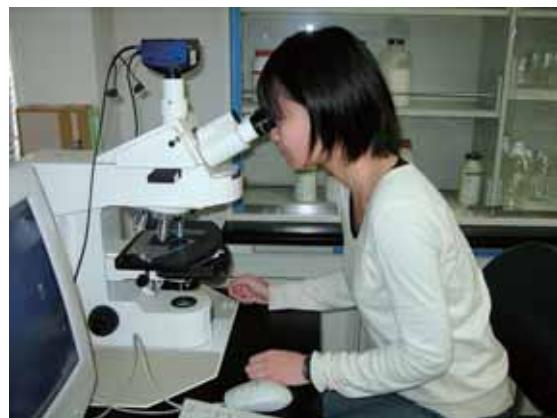
京都大学理学研究科 岡田グループ 平成 17 年 3 月



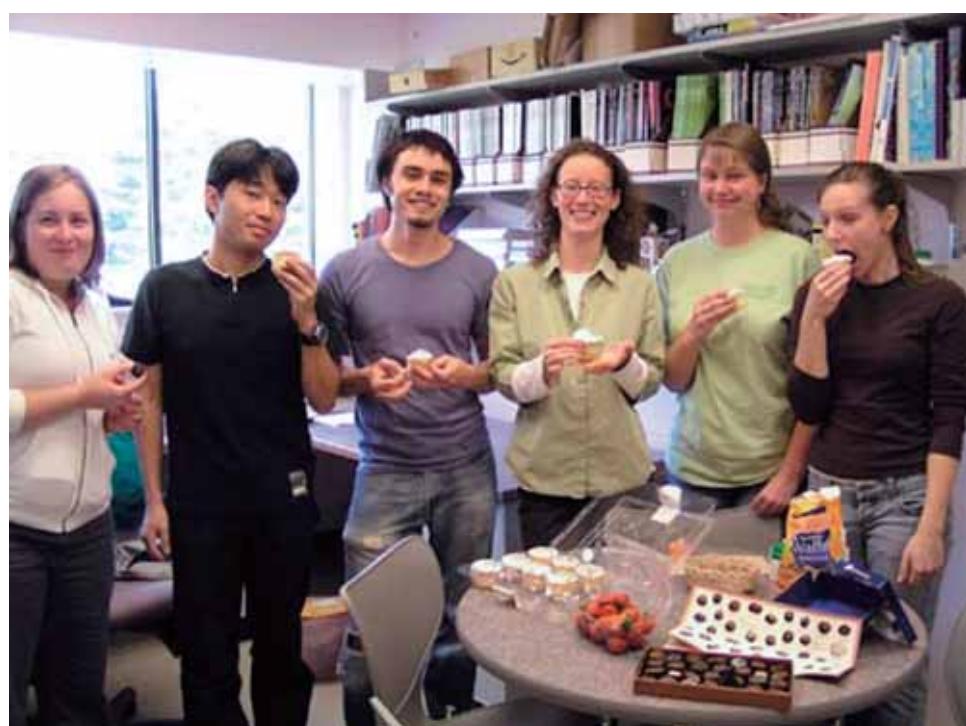
京都大学理学研究科 岡田グループ 平成 18 年 3 月



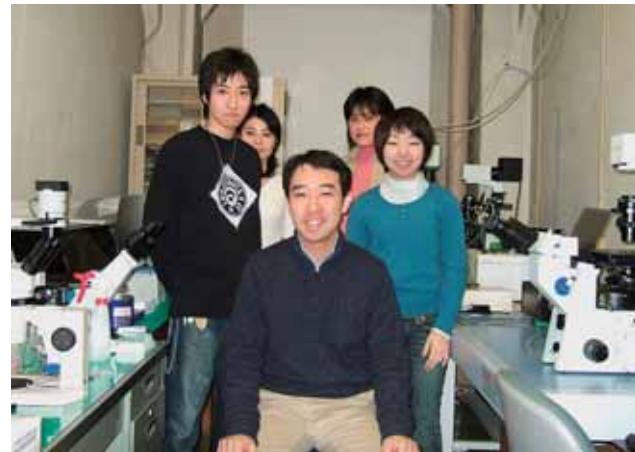
中部大学応用生物学部 町田グループ 平成 18 年 12 月



中部大学応用生物学部 町田グループ



ワシントン大学 鳥居グループ 平成 18 年



東京大学理学系研究科 東山グループ 平成 18 年 12 月



東京大学理学系研究科 東山グループ 平成 18 年 7 月

最大の目標に掲げた花粉管ガイダンス分子の同定に関して、TfLCR1 という極めて有望な候補を得ることができたことから、本研究の達成度は高いと言える。特に精製 TfLCR1 に対して、花粉管が誘引される様子は、この助細胞特異的に発現する分泌性低分子タンパク質が花粉管ガイダンス分子であることを強く示唆している。100 年以上も植物学者を翻弄してきた花粉管ガイダンス分子の候補を得た意義は、極めて高い。今後、この遺伝子のノックアウト株で花粉管が迷走することが示されれば、TfLCR1 が助細胞の分泌する単独のガイダンス分子であることが示され、生殖隔離障壁の打破などに向け、大きなインパクトをもつ。また、花粉管の受精能獲得という独自に見出した現象について、それが雌性胞子体組織による二段階の制御であることを示し、また最終段階ではたらく 70 kDa タンパク質 AMOR を同定したことも、世界的に見て極めて先駆的である。プロジェクト運営については、UV レーザーなど最初に購入した特徴ある機器を使いこなして成果を得るなど、適正であった。3 年目よりプロジェクトにポスドクを加えて AMOR の同定に至るなど、若手を育成しながら研究を推進できたことも、望ましい展開であったと言える。本研究を、このように順調に推進できた背景には、途中フランス・ルイパスツール大学への出張までもサポートして下さった、戦略的創造研究推進事業の支えが必要不可欠であったと確信している。（東山哲也）



東京大学農学系研究科 中西グループ 平成 16 年 11 月



東京大学農学系研究科 中西グループ



研究の区切りを迎えて 中西友子

研究の目標等から見た達成度

研究の最終目的は植物細胞間のシグナル伝達を追跡することであり、そのためには標識物質を植物に与えその動態を追跡する技術が必要となる。従来よく用いられる蛍光標識物質は植物体内での局在や遺伝子の発現には非常に有効であるが、細胞間での動態という視点から見ると標識することで物質の特性が変化してしまうため、本来の動態を解析することができない。そこで我々は通常の化合物とまったく同じ動態を示す放射性同位体元素標識化合物を、リアルタイムで植物が生きたままの状態で追跡する手法の開発を行った。この方法により植物体の全体

すなわち個体レベルでのマクロイメージング、および微細な組織や細胞レベルでの解析を可能とするミクロイメージングの基礎技術を確立した。この手法を用い、従来はなしえなかつた短時間でのリン酸欠乏に対する植物の応答解析などについて高感度、より短時間分析可能という利点を生かして解析を行っている。未解決の問題点としては生きたままの植物を対象にした場合、その生理活性の維持（光、温度条件）、特にミクロイメージングの細胞切片の活性維持に未解決の問題が挙げられる。またミクロイメージングでは微細組織の観察となるため、観察視野内に検出感度満たす標識物質が存在している必要があるが、比較的多く存在するイオンのような物質もしくは比放射能が高い物質でないと検出が困難となる問題がいまだ未解決の問題として残されている。

#### 得られた成果の意義等の自己評価

生きた組織における pmol 以下のイオンや化学物質のリアルタイムの動態解析は従来計測手法が未発達の分野であり、高感度、高解像度かつリアルタイムで定量的に解析できる手法が現在最も必要とされている。高感度で物質動態をイメージングできる手段があれば今までの科学的手法では達成することができなかつた新たな研究を数多く進めることができとなり、学術分野のみならず新しい医薬品の開発などの産業分野においても大きな進歩をもたらすことが期待される。この社会的な要望に対し、ラジオアイソトープ標識化合物のリアルタイム検出システムは極めて有効であり、基礎的技術としてマクロ、ミクロイメージングを確立できたことは大きな貢献になると考えられる。

#### 今後の研究の展開

今後の展開として、様々な研究分野の研究者が使用できるようにするために数多くの研究者がすでに使用している顕微鏡にリアルタイムで放射性同位体元素標識化合物の分布、動態を可視化できる機能を搭載したシステムを開発することが挙げられる。すなわち組織や細胞の蛍光観察を行いつつ、放射性同位体元素標識化合物の検出も同時に行うことが可能なラジオアイソトープ一蛍光顕微鏡システムの開発、実用化を目指している。従来の蛍光顕微鏡に新しい機能が追加されることにより、遺伝子発現と標的化合物の分布や移動を一挙に解析していくことが可能となり、このシステムは現代のバイオテクノロジー分野において極めて強力なツールとなりうることが予想している。

#### 若手の育成

ポストドクとして雇用した頼が本プロジェクトにより、蛍光と並ぶ程に放射線イメージングの技術を大きく向上させることができた。本研究により頼の得た結果は同研究室の他の若い研究者の研究にも大きく影響を与え、元素や化合物のみならず、水の動態との融合研究が生まれるに至っている。