

総説**シロイヌナズナの組織培養によるシュート再生機構****坂野弘美**

中部大学応用生物学部

要 旨

植物は組織培養により、組織片から植物個体を再生させることができる。この過程は、植物ホルモンであるオーキシシンとサイトカイニンの刺激により、分化した組織の細胞が脱分化して細胞分裂し、その後のオーキシシンとサイトカイニンの濃度バランスが異なる培地で培養することにより新たな器官を再分化すると長年信じられてきた。これが植物細胞の分化全能性と呼ばれた性質である。しかし、近年、維管束に存在する一部の細胞が分化多能性を保持しており、これらの細胞がオーキシシンの刺激により細胞増殖を開始し、その後のオーキシシンとサイトカイニンの濃度バランスの変化により根や茎葉を再分化させると考えられるようになった。本総説では、組織培養による個体再生における重要なステップである側根原基から茎頂メリステムへの転換過程を中心に、シロイヌナズナにおけるシュート再生機構を解説する。

1. はじめに

遺伝子組換え植物を作出するためには、まず、外来遺伝子を植物組織片に導入し、遺伝子が導入された細胞を抗生物質耐性により選抜する。その細胞から組織培養技術により個体再生させ、開花後に形成された種子から次世代の個体を生育させることにより組換え体の作出が完了する。この過程において、外来遺伝子の導入については、アグロバクテリウム法、あるいは、パーティクルガン法などにより比較的容易に達成される。しかし、その外来遺伝子が導入された細胞から個体再生できる効率は、植物種のみならず、品種によっても様々である。古典的な培養法の多少の改変により成功すれば良いが、一般的な方法で個体再生できない場合、検討すべき培養条件には植物ホルモンの種類及び濃度、培地組成などの様々な要素が組み合わさるために、最適条件を見いだすことは非常に困難となる。このため、現在でも遺伝子組換え体を作成できない植物種、品種も少なくない。従って、遺伝子組換え体作製の成否は、組織培養による個体再生効率に大きく依存している。

組織培養による個体再生の方法としては、器官（不定芽・不定根）再生を経由する方法と不定胚を経由する方法がある (Xu and Huang, 2014)。不定芽形成の場合は、不定芽より地上部（茎と葉は同じ茎頂メリステムから形成

されるために、1つの茎頂メリステムから生じた茎とその上に形成される葉の単位をシュートと呼ぶ；メリステムは分裂組織と同義）を再生させ、その後に植物ホルモンのバランスを変えることによって不定根を形成させて完全な植物体を作成する。しかし、地上部さえあれば開花させて種子を得ることはできるので、不定根形成は個体再生には必須ではない。一方、不定胚が一旦形成されれば、その後は通常の発生プログラムに従って個体が再生される。つまり、不定芽または、不定胚を組織培養によって誘導できれば個体再生は比較的容易に達成される。不定芽形成と不定胚形成の違いは、茎頂メリステムのみ形成されるか、茎頂メリステムと根端メリステムの両極が同時に形成されるかの違いである。不定胚形成の機構は種子における胚形成の機構と深く関わっており、不定芽形成機構とはかなり異なると考えられている。

組織培養による不定芽・不定根形成は、最終分化した組織片をオーキシシンとサイトカイニンを含む培地で培養する事により初期のカルス（未分化な細胞塊）形成を誘導し、そこからオーキシシンとサイトカイニンの濃度バランスを変えることによって茎頂メリステム (SAM; Shoot Apical Meristem) あるいは、根端メリステム (RAM; Root Apical Meristem) を誘導してそれぞれの器官を再生させる。長年、カルスは最終分化した体細胞が脱分化し、

分裂を開始して形成されると信じられてきた。しかし、近年のシロイヌナズナを用いた研究から、植物個体には未分化な状態の幹細胞が休眠状態で存在し、植物ホルモンの刺激によってこれらの細胞が分裂を開始し、SAMあるいは、RAM を経て器官再生が起こると考えられるようになってきた (Atta et al., 2009; Sugimoto et al., 2010). RAM 形成は、通常の植物体における側根形成に非常によく似ている。一方、組織培養による SAM 形成においては、サイトカイニンの刺激により低頻度ではあるが、RAM が SAM に転換する。一旦、SAM や RAM が形成されれば、通常の発生プログラムに従い、シュート、あるいは根が形成される。本総説では、組織培養における RAM から SAM への転換機構に焦点を当てて解説する。

2. 側根形成とカルス形成の類似性

植物体は、地上部の支持のために常に新たな側根を発生して根を張らせている。側根の形成の制御にはオーキシンが中心的な役割を果たしており、側根形成は側根形成位置の決定から始まる (Vermeer and Geldner, 2015; Taylor-Teeple et al., 2016). 図 1A のように、伸長領域と一部の分裂領域はオシレーション領域と呼ばれており、この領域では 4~6 時間周期でオーキシン濃度変動しているが、オーキシン濃度が高い領域の原生木部に接する内鞘細胞 (図 1B) が側根創始細胞として決定され、その細胞から側根形成が開始される。この内鞘細胞はオーキシシンに応答して分裂する能力を有しており、休眠中の幹細胞と推定され、側根発生の他に根の肥大成長に必要な分裂細胞を供給すると考えられている。側根創始細胞は分裂を開始し、局所的なオーキシンに対する応答上昇に続く不等分裂を経て側根原基を形成する。その後、側根原基 (LRP; Lateral Root Primordia) から RAM が形成され、発生プログラムに従って根を伸長させる。この側根発生過程の分子機構については、多くの総説で解説されているので、そちらを参照されたい (Van Norman et al., 2013; Vilches-Barro and Maizel, 2014; Vermeer and Geldner, 2015; Taylor-Teeple et al., 2016).

シロイヌナズナの組織培養においては、カルス誘導ホルモンとして、合成オーキシンである 2,4-ジクロロフェノキシ酢酸 (2,4-D) が用いられる。2,4-D は後述する PIN タンパク質によって細胞から排出されないために、細胞中で蓄積されて強力なオーキシン活性を発揮する (Friml et al., 2003). この 2,4-D を含むカルス培地で培養することにより、側根形成の場合と非常によく似た過程を経て LRP 様構造が形成される (Atta et al., 2009). その後は、個体中の側根形成とは異なり、高濃度の 2,4-D が蓄積され続けるために正常な RAM を形成できず、正常な側根発生プログラムとは異なり、無秩序な分裂を続けてカルスと呼ばれる未分化な細胞塊を形成する。このとき、LRP 様構造が形成された後に低濃度の極性輸送可能なオーキシンを含む根誘導培地に移して培養すると多数の根が発生するが、2,4-D を含むカルス培地で培養を続けるとカルスが形成される。すなわち、LRP においては、極性輸送によってオーキシンの適正な濃度勾配が形成されて、形態形成が制御された LRP が形成されると考えられる。従って、LRP と初期のカルスは非常によく似た分裂組織とみなすことができる。実際、側根が形成できない変異株である *aberrant lateral root formation (alf) 4-1* の根切片をカルス誘導培地上で培養してもカルスは形成されない (Sugimoto et al., 2010). また、ゲノム全体に対する発現プロファイルの解析の結果、カルス中の遺伝子の発現プロファイルは、RAM 中のそれと非常に類似していることが示されている (Sugimoto et al., 2010).

組織培養において原生木部に接する内鞘細胞を活性化する遺伝子群に *ASYMMETRIC LEAVES2 (AS2)/LATERAL ORGAN BOUNDARIES (LOB)* ファミリーがある (Fan et al., 2012). 最初に同定された *AS2/LOB* ファミリーに属する遺伝子産物 AS2 は転写因子である AS1 と相互作用して下流遺伝子の発現を制御していることから、他の *AS2/LOB* ファミリータンパク質も何らかの転写制御因子と相互作用して発現制御に関わると推定されている (Xu et al., 2003). *LATERAL ORGAN BOUNDARIES DOMAIN (LBD) 16/ASYMMETRIC LEAVES 2 LIKE (ASL) 18*,

LBD17/ASL15, *LBD18/ASL20*, *LBD29/ASL16* は、根切片をカルス誘導培地に移した直後から発現が誘導され、12 時間後には発現のピークとなる (Fan et al., 2012). また、これらの遺伝子を強制発現させると、表現型の強さには違いがあるが、2,4-D を含まない培地でも個体上の組織からカルスが形成される。さらに、強力な転写抑制配列である *SRDX* を付加した

LBD16 タンパク質を強制発現させる (*SRDX* により、*LBD16* が転写抑制因子に変換され、優勢欠損形質を示す) とカルス誘導培地上でのカルス形成が抑制される。これらのことから、これらの *AS2/LOB* ファミリー遺伝子は組織培養におけるカルス形成において、オーキシンシグナルの下流で原生木部に接する内鞘細胞の活性化を制御していると考えられる。

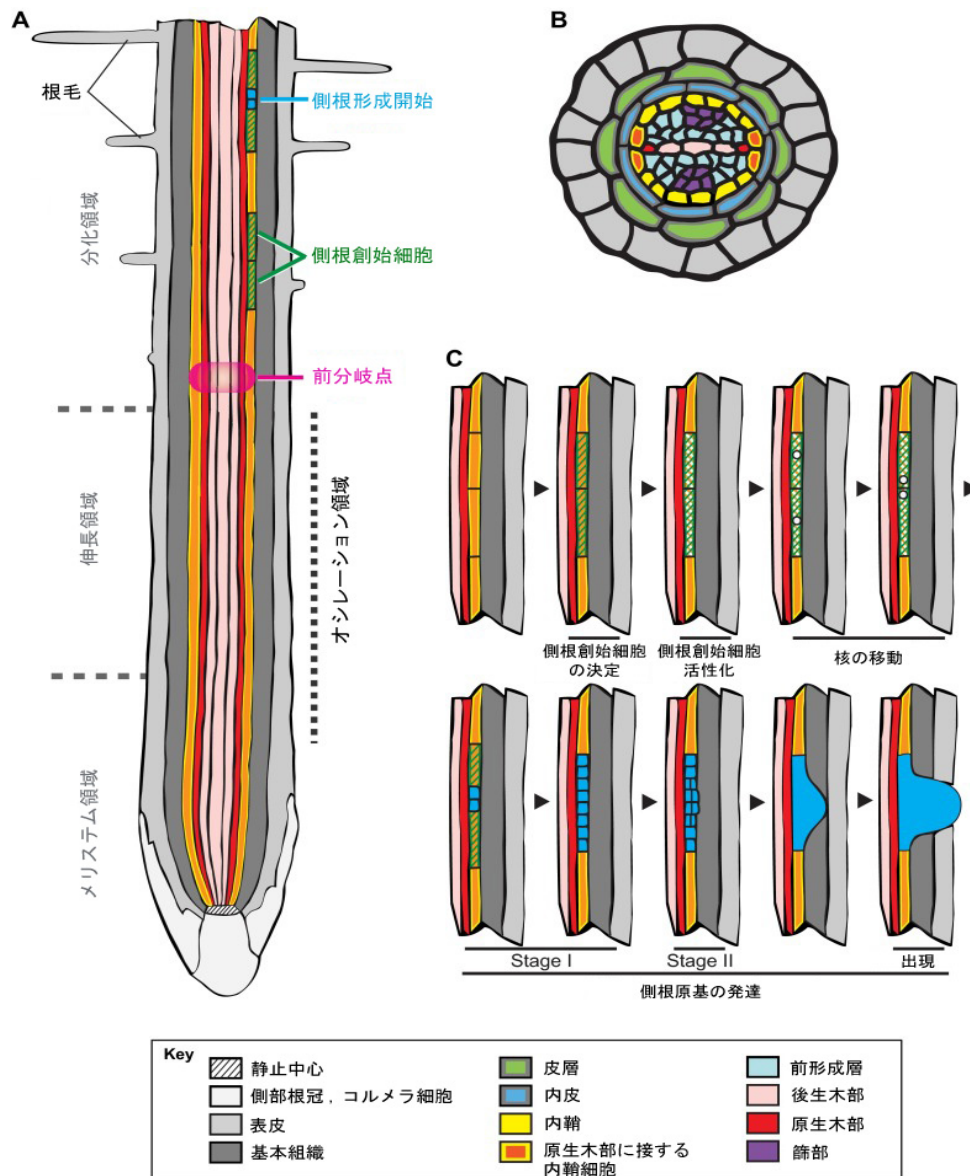


図 1. シロイヌナズナの根の構造と発生

(A) 根の中心の断面図で、図の左は発生段階を示した。前分岐点は新たな側根原基の発生位置を示している。(B) 前分岐点の断面図で、下の Key に各組織の名称を示した。(C) 側根原基発生を時系列に沿って模式的に示した。隣接する2つの側根創始細胞が決定されると核が移動して不等分裂する。その後、分裂した内側の細胞が縦方向に分裂し、やがて横方向にも分裂して側根原基が発生する。

Van Norman et al. (2013), Figure1 から引用。

3. LRPからSAMへの転換

シロイヌナズナの根切片,あるいは,胚軸を 2,4-D を含むカルス誘導培地で数日培養した後にサイトカイニンを含むシュート誘導培地に移すと,一部のLRP様構造が SAM に転換し,シュートが形成される (Atta et al., 2009). SAM 形成と維持において中心的な役割を果たすのが *WUSCHEL* (*WUS*) 遺伝子である (Laux et al., 1996). *WUS* は転写制御因子をコードしており,メリステムの形成と維持に関わる様々な遺伝子の発現を制御している. 組織培養においては, 2,4-D によって LRP を形成させた後に, サイトカイニンを含む培地に移すと *WUS* の発現が誘導されることが知られている (Gordon et al., 2007). サイトカイニンシグナルによる LRP から SAM への転換過程の最終ターゲットは *WUS* の発現誘導かも知れない. *WUS* を中心とした遺伝子ネットワークによる SAM の形成と維持に関しては多くの総説が発表されているので, そちらを参照されたい (Shani et al., 2006; Somssich et al., 2016; Galli and Gallavotti, 2016).

LRP から SAM への転換の初期過程に関わる遺伝子として *ENHANCER OF SHOOT REGENERATION 1* (*ESR1*) が同定されている (Banno et al., 2001). *ESR1* は強制発現によりサイトカイニンを含まない培地でもシュートを形成させる遺伝子として同定されたが, 組織培養のシュート形成過程で *ESR1* を強制発現させると, シュート形成効率が飛躍的に上昇する. *ESR1* は植物特有の AP2/ERF ファミリーに属する転写制御因子をコードしており, 下流の遺伝子には *WUS* があることも予想されるが, *ESR1* が *WUS* の発現を制御するという実験結果は得られていない. カルス誘導培地で数日間培養した (LRP 形成を誘導した) 根切片をシュート誘導培地に移すと, 直後から *ESR1* の発現が誘導される. この過程において *ESR1* の発現を GUS レポーターを用いて調べたところ, シュート誘導培地に移した 24 時間後には LRP 中の内鞘近くの数細胞で発現が確認され, それらの細胞が増殖して SAM が形成されることを示唆する結果が得られた (図 2) (Matsuo, et al., 2011). これらのことから, *ESR1* は LRP から SAM への転換過程で働く と推定される.

ESR1 は SAM 形成後も発現が続き, SAM からシュートが形成される過程にも関わっているようである.

PLETHORA (*PLT*) 遺伝子ファミリーに属する *PLT5*, *PLT7* も強制発現によりサイトカイニン非依存的な SAM 形成を引き起こす (Kareem et al., 2015). *PLT* ファミリーも AP2/ERF ファミリー転写制御因子をコードしているが, DNA 結合領域のアミノ酸配列は *ESR1* のそれとは比較的遠い系統関係にあるため, それらの認識配列は異なると推定され, *ESR1* とは異なる段階で SAM 形成に関わると考えられる. *plt3/plt5/plt7* 三重変異株では LRP 様構造は形成されるが, シュート誘導培地上でも SAM 形成は起こらず分裂を続けてカルスを形成することから, これらの遺伝子は LRP から SAM への転換において重要な役割を担っていると推定される.

LRP 様構造の形成過程ではオーキシシンが中心的な役割を果たすのに対して, LRP から SAM への転換ではサイトカイニンを培地へ添加することが不可欠である. しかし, オーキシシンとサイトカイニンは複雑なクロストークをして互いにそれらの濃度を調節し合っている (Su et al., 2011). オーキシシンは植物体の頂端部で合成され, 極性移動により基底部, さらに根端へと運ばれる. この際, 極性移動を担うのが PIN タンパク質群と AUXIN1 (*AUX1*)/LIKE *AUX1* (*LAX*) タンパク質群である. PIN-FORMED (*PIN*) ファミリータンパク質が細胞内へのオーキシシンの流出キャリアであるのに対し, *AUX1/LAX* ファミリータンパク質はオ

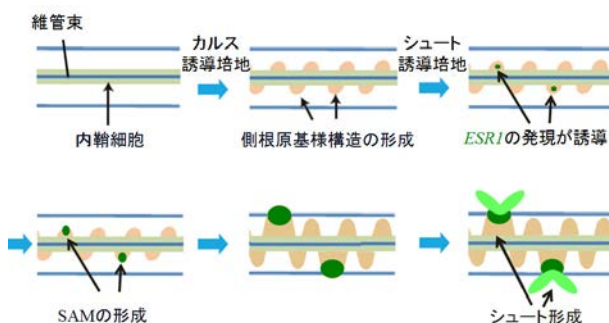


図 2. シュート発生過程における *ESR1* の発現パターン

根切片からシュートが再生する模式図を示した. 緑は *ESR1* の発現場所を示しており, *ESR1* の発現場所は新たに形成された SAM の組織と一致している.

オーキシンの流入キャリアである (Kramer, 2004). オーキシンの極性移動には PIN と AUX1/LAX の細胞内局在が重要で、これらの細胞内局在位置よりオーキシンの流入方向と排出方向が決定され、オーキシンの極性移動の方向が制御されている。組織培養による SAM 形成の過程でオーキシン輸送の阻害剤を培地に加えると WUS の発現も阻害されてシュート形成が全く起きなくなる (Cheng et al., 2013). さらに, *pin1* 変異株では、シュート形成能が著しく低下する (Gordon et al., 2007). 一方、近年、胚発生以降の個体中での SAM 形成過程である側芽形成においても、SAM 形成にはオーキシンの局所的な濃度減少とその後のサイトカイニン刺激が重要であることが明らかになってきた。SAM の頂点と葉原基の間で葉原基に近い場所のオーキシン濃度は局所的に最低となっており、そこにサイトカイニンシグナルが加わると側芽メリステム (AM) が形成される (Y. Wang et al., 2014; Q. Wang et al., 2014). 従って、組織培養における SAM 形成においてもサイトカイニンを含むシュート誘導培地上での LRP における局所的なオーキシンの濃度低下が SAM への転換を引き起こすのかも知れない。

4. 地上部組織からのシュート再生

これまで、根や胚軸の中心部には維管束があり、維管束中の内鞘細胞が分裂して新たなメリステムを形成することを説明してきた。では、地上部の他の組織ではどうだろう？ Sugimoto ら (2010) は、シロイヌナズナの子葉と花卉の切片を組織培養し、カルス形成能を調べた。その結果、根や胚軸に比べて高い 2,4-D 濃度を要求するものの、カルスが形成され、そのカルス形成は前述の *alf4-1* 変異により完全にブロックされることが明らかになった。葉や花卉には通導組織として葉脈が存在し、葉柄を介して茎または胚軸の維管束と繋がっている。葉脈の維管束における内鞘細胞の存在は知られていなかったが、内鞘細胞のマーカー遺伝子の発現を調べたところ、主脈の中でそのマーカー遺伝子を強く発現している組織が存在することが明らかになった。さらに、ゲノム全体の発

現解析の結果、根や胚軸から形成されるカルスと同様に、子葉や花卉から形成されたカルスにおいても、RAM と類似した発現プロファイルを示した (Sugimoto et al., 2010). これらのことから、地上部から組織培養によるカルス形成においても、根や胚軸と同様に、葉脈維管束の内鞘細胞に類似した細胞が分裂して LRP を形成すると考えられる。

双子葉植物個体中には前述の SAM, RAM, AM の他に二次成長(肥大成長)を引き起こす維管束形成層がある。形成層は木部と師部の間にあり、形成層が分裂することにより新たな木部、師部及び形成層の細胞を生じるが、形成層もまた、内鞘細胞から生じる。それぞれのメリステムの維持は WUS あるいは、WUS と構造的に非常に類似した WUSCHEL-RELATED HOMEODOMAIN (WOX) ファミリー転写因子によって制御されている (Laux et al., 1996; Sarkar et al., 2007; Ji et al., 2010). 組織培養による葉脈から根の再生においては、WOX11 と WOX12 が葉脈の前形成層あるいは、その近傍の柔細胞から RAM が形成される初期過程に関わっており、前述の *LBD16* と *LBD29* の発現を制御していることが報告されている (Liu et al., 2014). 従って、組織培養では幹細胞からの LRP 形成と LRP からの器官再生では、機能する WUS/WOX が異なっており、最終的にどの WUS/WOX が発現するかによって、再生される器官が決定されるのかも知れない。

5. おわりに

植物の組織培養では、分化した組織からカルス化を経て他の器官に分化させる。言い換えると、分化した組織をそのまま維持することはできず、未分化な組織を増殖させて未分化なまま維持するか、他の器官に分化させる。植物の生長は無限成長であるため、器官分化させれば新たな器官を発生し続ける状態で維持することができる。これまで、植物においては、培地中のオーキシンとサイトカイニンの濃度比によって脱分化と再分化を制御できると考えられてきた (Reinert and Bajaj, 1977). すなわち、分化した植物細胞の発生をプログラムしなおして幹細胞として細胞増

殖させ、さらにそれらを再分化させることができると信じられてきた。これが植物細胞がもつ分化全能性である。しかし、近年の研究により、この概念が大きく揺らいでいる。植物の維管束には内鞘細胞が未分化な状態を維持した幹細胞として存在し、必要に応じて分裂を開始して新たなメリステムを形成すると考えられるようになった (Atta et al., 2009; Sugimoto et al., 2010)。植物個体の根の側根形成時にはLRP形成のプログラムが起動すると考えられる。また、葉の葉脈においては、葉の一部が欠損したときに、残った組織を活かすためには通導組織の再構築が必要になるのであろう。植物種によっては、個体上の茎においても傷害によって不定芽や不定根が形成されることが知られている。また、植物個体には多数の側芽が存在し、常に頂端部の欠損に備えている。側芽はSAMから葉が形成される際に葉柄の付け根部分に形成されが、組織培養によるシュート形成は、培地中の植物ホルモンの刺激によって側芽形成の仕組みを模倣しているのかも知れない。

一方、1970年代にはタバコの葉肉プロトプラストを用いた個体再生の研究がなされ (Takebe et al., 1971)、シロイヌナズナにおいても葉肉プロトプラストからの個体再生の報告がある (Grafi et al., 2007)。最終分化した葉肉細胞から他の器官を再生するには脱分化のステップが不可欠であり、葉肉細胞が脱分化する能力を持っていることは明らかである。これらの研究は、プロトプラストが用いられており、細胞壁を取り除くことが脱分化と発生プログラムの初期化に重要なのかも知れない。

謝辞

図1の翻訳引用を許可頂いた出版社 The Company of Biologist Ltd.に感謝致します。

引用文献

Atta, R., Laurens, L., Boucheron-Dubuisson, E., Guivarc'h, A., Carnero, E., Giraudat-Pautot, V., and Chriqui, D. (2009). Pluripotency of *Arabidopsis* xylem pericycle underlies shoot

regeneration from root and hypocotyl explants grown in vitro. *Plant Journal*, 57 (4), 626–644.

Banno, H., Ikeda, Y., Niu, Q. W., and Chua, N. H. (2001). Overexpression of *Arabidopsis* ESR1 induces initiation of shoot regeneration. *The Plant Cell*, 13(12), 2609–18.

Cheng, Z. J., Wang, L., Sun, W., Zhang, Y., Zhou, C., Su, Y. H., and Zhang, X. S. (2013). Pattern of auxin and cytokinin responses for shoot meristem induction results from the regulation of cytokinin biosynthesis by AUXIN RESPONSE FACTOR3. *Plant Physiology*, 161(1), 240–51.

Fan, M., Xu, C., Xu, K., and Hu, Y. (2012). LATERAL ORGAN BOUNDARIES DOMAIN transcription factors direct callus formation in *Arabidopsis* regeneration. *Cell Research*, 22 (7), 1169–80.

Friml, J., Vieten, A., Sauer, M., Weijers, D., Schwarz, H., Hamann, T., and Jürgens, G. (2003). Efflux-dependent auxin gradients establish the apical-basal axis of *Arabidopsis*. *Nature*, 426 (6963), 147–153.

Galli, M. and Gallavotti, A. (2016). Expanding the Regulatory Network for Meristem Size in Plants. *Trends in Genetics*, 32 (6), 372–383.

Gordon, S. P., Heisler, M. G., Reddy, G. V., Ohno, C., Das, P., and Meyerowitz, E. M. (2007). Pattern formation during de novo assembly of the *Arabidopsis* shoot meristem. *Development*, 134 (19), 3539–48.

Grafi, G., Ben-Meir, H., Avivi, Y., Moshe, M., Dahan, Y., and Zemach, A. (2007). Histone methylation

- controls telomerase-independent telomere lengthening in cells undergoing dedifferentiation. *Developmental Biology*, 306 (2), 838–846.
- Ji, J., Shimizu, R., Sinha, N., and Scanlon, M. J. (2010). WOX4 Promotes Procambial Development. *Plant Signaling and Behavior*, 5 (7), 916–20.
- Kareem, A., Durgaprasad, K., Sugimoto, K., Du, Y., Pulianmackal, A. J., Trivedi, Z. B., and Prasad, K. (2015). PLETHORA Genes Control Regeneration by a Two- Step Mechanism. *Current Biology*, 25 (8), 1–14.
- Kramer, E. M. (2004). PIN and AUX/LAX proteins: Their role in auxin accumulation. *Trends in Plant Science*, 9 (12), 578–582.
- Laux, T., Mayer, K. F., Berger, J., and Jürgens, G. (1996). The WUSCHEL gene is required for shoot and floral meristem integrity in *Arabidopsis*. *Development* 122, 87–96.
- Liu, J., Sheng, L., Xu, Y., Li, J., & Yang, Z. (2014). WOX11 and 12 are involved in the first-step cell fate transition during de novo root organogenesis in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, 7 (3), 1–14.
- Matsuo, N., Makino, M., and Banno, H. (2011). *Arabidopsis* ENHANCER OF SHOOT REGENERATION (ESR)1 and ESR2 regulate in vitro shoot regeneration and their expressions are differentially regulated. *Plant Science*, 181 (1), 39–46.
- Reinert, J. and Bajaj, Y. P. S. (1977). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. New York: Springer-Verlag.
- Sarkar, A. K., Luijten, M., Miyashima, S., Lenhard, M., Hashimoto, T., Nakajima, K., and Laux, T. (2007). Conserved factors regulate signalling in *Arabidopsis thaliana* shoot and root stem cell organizers. *Nature*, 446 (7137), 811–814.
- Shani, E., Yanai, O., and Ori, N. (2006). The role of hormones in shoot apical meristem function. *Current Opinion in Plant Biology*, 9 (5), 484–489.
- Somssich, M., Je, B. Il, Simon, R., and Jackson, D. (2016). CLAVATA-WUSCHEL signaling in the shoot meristem. *Development*, 143(18), 3238–3248.
- Su, Y. H., Liu, Y. B., and Zhang, X. S. (2011). Auxin-cytokinin interaction regulates meristem development. *Molecular Plant*, 4 (4), 616–625.
- Sugimoto, K., Jiao, Y., and Meyerowitz, E. M. (2010). *Arabidopsis* regeneration from multiple tissues occurs via a root development pathway. *Developmental Cell*, 18(3), 463–471.
- Takebe, I., Labib, G., and Melchers, G. (1971). Regeneration of whole plants from isolated mesophyll protoplasts of tobacco. *Die Naturwissenschaften*, 58 (6), 318–320.
- Taylor-Teeple, M., Lanctot, A., and Nemhauser, J. L. (2016). As above, so below: Auxin’s role in lateral organ development. *Developmental Biology*, 419 (1), 156–164.
- Van Norman, J. M., Xuan, W., Beeckman, T., and Benfey, P. N. (2013). To branch or not to branch: the role of pre-patterning in lateral root formation. *Development (Cambridge, England)*, 140(21),

4301–10. <https://doi.org/10.1242/dev.090548>

Vermeer, J. E. M., and Geldner, N. (2015). Lateral root initiation in *Arabidopsis thaliana*: a force awakens. *F1000prime Reports*, 7(March), 32.

Vilches-Barro, A., and Maizel, A. (2014). Talking through walls: Mechanisms of lateral root emergence in *Arabidopsis thaliana*. *Current Opinion in Plant Biology*, 23, 31–38.

Wang, Q., Kohlen, W., Rossmann, S., Vernoux, T., and Theres, K. (2014). Auxin Depletion from the Leaf Axil Conditions Competence for Axillary Meristem Formation in *Arabidopsis* and Tomato. *The Plant Cell*, 26 (5), 2068–2079.

Wang, Y., Wang, J., Shi, B., Yu, T., Qi, J., Meyerowitz, E. M., and Jiao, Y. (2014). The Stem Cell Niche in Leaf Axils Is Established by Auxin and Cytokinin in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, 26(5), 2055–2067.

Xu, L., and Huang, H. (2014). *Genetic and Epigenetic Controls of Plant Regeneration. Current Topics in Developmental Biology* (1st ed., Vol. 108). Elsevier Inc.

Xu, L., Xu, Y., Dong, A., Sun, Y., Pi, L., Xu, Y., and Huang, H. (2003). Novel as1 and as2 defects in leaf adaxial-abaxial polarity reveal the requirement for ASYMMETRIC LEAVES1 and 2 and ERECTA functions in specifying leaf adaxial identity. *Development*, 130 (17), 4097–4107.

Title : Molecular mechanism of *Arabidopsis* shoot regeneration by tissue culture.

Author(s) : Hiroharu Banno

Address(es) : College of Bioscience and Biotechnology, Chubu University, 1200 Matsumoto-cho, Kasugai, Aichi 487-8501, Japan,

Keywords : shoot regeneration, pericycle, ESR1