

研究種目：特定領域研究

研究期間：2007～2011

課題番号：19060002

研究課題名（和文） 葉の後期器官発生を司る統御系

研究課題名（英文） Mechanisms for late development of leaf primordia

研究代表者

塚谷 裕一（TSUKAYA HIROKAZU）

東京大学・大学院理学系研究科・教授

研究者番号：90260512

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・発生生物学（5806）

キーワード： 葉， 器官形成， アレスト・フロント， 細胞分裂， 細胞伸長

1. 研究計画の概要

葉の初期原基は、茎頂メリステムを遙かにしのぐ活発な細胞増殖をおこなっている。これは、やがて先端部から基部に向けて発せられる、あるいは移動すると想定されている未知の前線、「arrest front」によって抑えられ、やがて停止すると共に、個々の細胞が分化・伸長に向かうと考えられてきた。そこで本研究では未開拓のテーマとして、(1) arrest front によって、細胞の分裂と伸長がどのような制御を受けるのか。(2) arrest front という仮想“前線”の実体は何か(3) arrest front 作用前の、葉原基における高い細胞分裂活性は何によるのか。(4) arrest front を境として空間的に切り分けられる細胞分裂領域と細胞伸長領域とは、互いに独立なのかの諸点を解明し、葉という器官の後期発生を、一体としてまとまりのあるものに統合するシステムの理解を実現する。

2. 研究の進捗状況

(1) 葉の極性伸長の制御遺伝子

シロイヌナズナの葉の横方向への極性細胞伸長を司る *AN* 遺伝子についてこれまで、既知モチーフ以外の領域がその機能に重要であること (Cho et al., 2008)、*AN* 遺伝子産物が細胞質中の特殊な局在を示すこと、またショウジョウバエにおいては *AN* の推定ホモログの dCtBP の機能を代替できないこと (Stern et al., 2007)、一方、ダフリアカラマツの *AN* ホモログはシロイヌナズナ *an* 変異体の表現型を相補すること (Li et al., 2008) を示した。現在コケ植物での解析も進めている。

(2) arrest front を境とする細胞分裂領域と

細胞伸長領域とは、互いに独立なのか

最近、葉という多細胞性器官のサイズ制御は、細胞非自律的であることが、確実視されるようになってきた (Tsukaya 2008)。葉を構成する細胞の数を減少させると、個々の細胞の体積が異常に増大する「補償作用」現象は、そのことを如実に示す現象である。私たちが単離した細葉の変異体 *an3* は、葉原基の細胞分裂が活発な領域で特異発現する転写共因子の機能欠損変異で、典型的な補償作用を発揮する。同様に補償作用を示す *fugu* 変異体を複数単離し解析した結果、補償作用は、細胞分裂終結後に誘導されるもので、細胞分裂と細胞伸長との脱共役が原因ではないことなどが判明した (Ferjani et al. 2007)。

またその一方で、葉の細胞伸長あるいは細胞分裂に特異的な欠損を示す変異体を単離し、*an3* との間の相互作用を解析した。その結果、葉の細胞伸長制御系は少なくとも2つの独立の経路からなり、そのうちの1経路のさらにその一部のみが、補償作用によって昂進していること (Fujikura et al. 2007)、また補償作用が発露する条件として、閾値を越えた細胞数の低下が必要であること (Fujikura et al. 2009) が判明した。

(3) arrest front そのものの性質

本テーマの最大の焦点である arrest front について改めて詳細に解析した結果、従来の理解と異なり、これは先端から基部に向かって移動するものではないこと (Kazama et al. 投稿中)、極性として双方向性があること (Ichihashi et al. 投稿中)、その領域の制御因子は複数あると考えられること (Ichihashi et al. 2010) が判明した。また

葉の縁にできる鋸歯ごとにも、オーキシシンシグナルの極性に沿ったと見られる arrest front が生じる可能性 (Kawamura et al. 2010) も見いだした。

一方、背腹性の制御が通常と異なり、葉身に向軸面のアイデンティティを欠く単面葉の解析も進め (Yamaguchi and Tsukaya 2007) シロイヌナズナやキンギョソウ、トウモロコシで知られてきたような、背腹性依存的な葉面展開の制御系とは異なる新たな制御系候補が浮かび上がった。

3. 現在までの達成度

当初の計画以上に進展している。

(理由)

上述のように、当初案通り arrest front を中心として、葉の後期発生を制御する今までに全く知られていなかった諸システムを、順調に解明してきた。加えて、以下の予期せぬ発見を得、公刊できた。

まず、いわゆる補償作用と逆に、細胞数が増加して細胞体積が減少する表現型を示す *msc* 変異体の原因遺伝子を同定した結果、特定の葉位における葉の中の細胞数・細胞体積は *miR156-SPL* 系によって制御されていることが判明した (Usami et al. 2009)。

一方、補償作用とは別のサイズ制御系も見いだした。 *gra* と名付けたカテゴリーの変異体は、染色体の一部が転座により重複したもので、転座のような染色体断片の重複が生物のサイズ制御に及ぼす影響について、新たな視点を提起した (Horiguchi et al. 2009)。

さらに、各種の葉サイズ変異体の倍数体シリーズを作成した結果、8 倍体では細胞体積が増加しながら、細胞数はむしろ減少すること (Tsukaya 2008) また、トポイソメラーゼ複合体の変異体の 4 倍体化から、その矮小形質の少なくとも一部は、核内倍加経路の欠損のために細胞サイズが大きくなれないところにあることが判明した (Breuer et al. 2007) 。これは、核内倍加が細胞サイズを制御していることの初の直接証明である。

4. 今後の研究の推進方策

(1) 細胞非自律制御の解明

2009 年度に、人工誘導型のキメラ作成に成功し、その結果、初めて細胞非自律的な葉形態制御経路の存在を直接証明できた。これを活用し、いかにして細胞非自律的な制御がなされるのかを解明する。またその細胞間コミュニケーションの分子実態が何であるか、 *an3* の補償作用を抑圧する変異の原因遺伝子のクローニングを通して迫る。

(2) Arrest front の性質

2009 年度までに、arrest front には、これまでの理解と大きく異なる性質があるこ

とが、次々と明らかになってきた。これらについてその制御系を解明し、上記(1)と共に、葉の器官レベルでの統御のしくみを解明する。その際、単面葉のような、従来使われてきたモデル植物の葉と根本的に異なるシステムを参照する利点も、最大限利用する。

5. 代表的な研究成果

[雑誌論文](計 21 件、うち査読あり 20 件)

Nelissen H., Fleury D., De Groeve, S., Bruno, L., Yamaguchi, T., Prinsen E., Cnops, G., Neyt, P., Bitonti, B., De Block, M., Witters, E., De Jaeger, G., Tsukaya, H., Houben, A. and Van Lijsebettens M. Plant Elongator regulates auxin-related genes during RNA polymerase II transcription elongation. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA* **107**: 1678-1683. (2010) 査読有

Usami T, Horiguchi G, Yano S and Tsukaya H The more and smaller cells mutants of *Arabidopsis thaliana* identify novel roles for *SQUAMOSA PROMOTER BINDING PROTEIN-LIKE* genes in the control of heteroblasty. *Development* **136**: 955-964. (2009) 査読有

Fujikura U, Horiguchi G, Ponce MR, Micol, JL, and Tsukaya H (2009) Coordination of cell proliferation and cell expansion mediated by ribosome-related processes in the leaves of *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.* **59**: 499-508 査読有

Tsukaya H. Controlling size in multicellular organs: Focus on the leaf. *PLoS Biology* **6**: 1373-1376(2008) 査読有

Breuer, C., Stacey, N.J., Roberts, G., West, C.E., Zhao, Y., Chory, J., Tsukaya, H., ほか 4 名 BIN4, a novel component of the plant DNA topoisomerase VI complex, is required for endoreduplication in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **19**: 3655-3668. (2007) 査読有

[学会発表](計 105 件)

[図書](計 5 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

[その他]

ホームページ

http://www.nibb.ac.jp/%7Ebioenv2/index_j.html

http://www.biol.s.u-tokyo.ac.jp/users/bioenv2/top_j.html