

令和元年6月18日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K18563

研究課題名(和文) イネの腋芽形成過程における幹細胞の確立と維持の制御機構の解明

研究課題名(英文) Genetic regulation of stem cell maintenance during axillary bud formation in rice

研究代表者

田中 若奈 (Tanaka, Wakana)

東京大学・大学院理学系研究科(理学部)・助教

研究者番号：10725245

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：イネの腋芽形成過程における幹細胞の確立時期と維持機構を明らかにすることを目的として、TAB1 遺伝子をはじめとするいくつかの幹細胞制御因子に着目して分子遺伝学的な研究を行った。まず、腋芽形成の初期過程において、幹細胞が確立することを明らかにした。また、その初期過程で一過的に発現する TAB1 遺伝子が、その時期の幹細胞運命の促進因子であることと、FON2 遺伝子が TAB1 遺伝子の発現を抑制することで、幹細胞集団を一定のサイズに維持していることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、植物の頂端分裂組織における幹細胞の制御について活発に研究が行われている中、腋芽形成過程における幹細胞に着目した研究はほとんど行われていなかった。本研究は、腋芽形成過程における幹細胞の確立と維持制御という、植物発生学分野での独創的な研究を展開することができたと考えている。また、イネの腋芽形成は側枝の数、最終的には穂の数を決定するため、本研究成果は植物発生学の分野に留まらず、将来的には応用研究にも貢献することが期待される。

研究成果の概要(英文)：Plant development depends on the activity of apical meristems. Pluripotent stem cells are maintained in the shoot apical meristem (SAM) throughout the plant life cycle, and provide cells for continuous organ formation. Branching pattern also depends on the meristem activity. Branches are derived from the axillary meristems (AMs) formed at leaf axils. Although much progress has been made for understanding stem cell regulation in the SAM, our understanding of stem cell regulation during AM development is insufficient.

To understand when and where stem cells are established during AM formation in rice, and how they are maintained after their establishment, we undertook a molecular genetic analysis focusing on known stem cell regulators. We first revealed that stem cells are established at an early stage of AM development by the spatiotemporal expression analysis of a stem cell marker. We then identified both positive and negative regulators of stem cell fate during AM development.

研究分野：植物発生遺伝学

キーワード：腋芽分裂組織 幹細胞 イネ 分けつ 側枝 TAB1

1. 研究開始当初の背景

植物の形態形成は頂端分裂組織の働きに大きく依存している。頂端分裂組織には幹細胞集団が含まれており、それら幹細胞は自己複製するとともに、葉などの側生器官を分化させるための細胞を供給している (Gailloch et al., Curr. Opin. Plant Biol., 2015; Fletcher, Plants, 2018)。地上部の頂端分裂組織すなわち茎頂分裂組織は、胚発生時に形成される場合と、胚発生後に葉の腋につくられる腋芽分裂組織に由来する場合がある。胚発生直後の植物は、1つの茎頂分裂組織からつくり出される主茎により一方向に成長することしかできないが、その後植物は、成長段階に応じて形成される腋芽分裂組織から腋芽をつくり出し、それを側枝として伸長させることにより大きく複雑な形態へと成長することが可能となる。側枝は、主茎と同様に、最終的には生殖器官である花を形成するため、多くの子孫を残すためにも重要である。したがって、植物の形態形成を理解する上で、側枝をつくりだす腋芽分裂組織の形成機構を明らかにすることは非常に重要であると考えている。しかしながら、腋芽形成に着目した研究は十分に行われていなかった。中でも、単子葉植物の腋芽の形成機構に関しては、理解が非常に遅れていた。

このような状況の中、私は、モデル単子葉植物のイネ (*Oryza sativa*) の腋芽形成に着目して研究を行ってきた。これまでに、イネの腋芽形成が段階的な過程を経て行われることを明らかにするとともに、腋芽分裂組織の形成に必要な *TILLERS ABSENT1* (*TAB1*) 遺伝子を同定してきた (Tanaka et al., Plant Cell, 2015)。*TAB1* 遺伝子が、シロイヌナズナの茎頂分裂組織において幹細胞運命の促進因子として働らく WUSCHEL (*WUS*) に最も近縁なタンパク質をコードしていることから、*TAB1* 遺伝子がイネの腋芽幹細胞の運命を制御している可能性が考えられた。しかしながら、腋芽形成過程における幹細胞に着目した研究はほとんど行われておらず、いつ頃どこで幹細胞が確立するかなどについても未解明であった。

2. 研究の目的

本研究では、イネの腋芽形成過程における幹細胞の確立時期と場所、確立された幹細胞の維持機構を明らかにすることを目的とした。これらの目的を達成するために、以下の4つのサブテーマについて研究を行った。

- (1) 腋芽形成過程における幹細胞マーカーの発現解析
- (2) 腋芽形成過程における幹細胞促進因子の同定
- (3) 腋芽形成過程における幹細胞抑制因子の同定および機能解析
- (4) 腋芽形成を制御する新たな因子の同定および機能解析

3. 研究の方法

- (1) 腋芽形成過程における幹細胞マーカーの発現解析

腋芽形成過程において、いつどこで幹細胞が確立するかを明らかにするために、イネの幹細胞マーカーとして知られている *FLORAL ORGAN NUMBER2* (*FON2*) 遺伝子 (Suzaki et al., Plant Cell Physiol., 2006) の時空間的発現パターンを解析した。

- (2) 腋芽形成過程における幹細胞促進因子の同定

以前の研究で同定していた、イネの腋芽形成の初期過程で一過的に発現する *TAB1* 遺伝子は、シロイヌナズナの茎頂分裂組織において幹細胞運命の促進因子として働らく *WUS* に最も近縁なタンパク質をコードしている。そこで、この *TAB1* 遺伝子が、イネの腋芽形成の初期過程で幹細胞運命の制御に関与しているのではないかという仮説を立てた。この仮説を検証するために、*tab1* 変異体の腋芽形成過程における幹細胞マーカーの発現パターンを解析した。

(3) 腋芽形成過程における幹細胞抑制因子の同定および機能解析

イネの花分裂組織において、*FON2* 遺伝子は幹細胞運命を抑制していることが知られている (Suzaki et al., Plant Cell Physiol., 2006)。そこで本研究では、腋芽形成過程における *FON2* 遺伝子の機能を解析した。具体的には、*fon2* 変異体の表現型解析や、その変異体の腋芽形成過程における幹細胞マーカーの発現パターンを解析した。加えて、*FON2* 過剰発現体も作製し、表現型を解析した。

(4) 腋芽形成を制御する新たな因子の同定および機能解析

(2) と (3) では、腋芽形成の幹細胞制御に関連している可能性が高い因子に着目したが、腋芽形成には多くの未知の因子も関わっている可能性が考えられた。そこで、私がこれまでに研究対象としてきた YABBY 転写因子をコードするイネの *TOB* 遺伝子群に着目した。これまでの研究から、*TOB1* 遺伝子は花分裂組織の維持に関与していることが示唆されていた (Tanaka et al., Plant Cell, 2012)。本研究では、*TOB1* 遺伝子に加え、近縁な *TOB2* と *TOB3* の3つの機能を抑制した形質転換体を作製し、腋芽形成における *TOB* 遺伝子群の機能を解析した。

4. 研究成果

(1) 腋芽形成過程における幹細胞マーカーの発現解析

腋芽形成過程において、幹細胞マーカー *FON2* 遺伝子の時空間的発現パターンを解析した結果、腋芽形成ごく初期の腋芽分裂組織が形成されるよりも前のステージにおいて、幹細胞マーカーの発現が開始することが判明した。このことから、イネの腋芽形成過程では、ごく初期に幹細胞が確立されることが示唆された。

(2) 腋芽形成過程における幹細胞促進因子の同定

tab1 変異体の腋芽形成過程における *FON2* 遺伝子の発現パターンを解析した結果、その発現は全く検出されなかった。この結果から、腋芽形成の初期過程において一過的に発現する *TAB1* 遺伝子の機能が、確立されたばかりの幹細胞の運命を維持するために必要であると考えられる。以前の研究から、*tab1* 変異体では、腋芽分裂組織の形成が途中で停止することが明らかになっていた (Tanaka et al., Plant Cell, 2015)。今回の解析結果から、その *tab1* 変異体の表現型は、腋芽形成初期の幹細胞維持が行われないうちに起因していると考えられる。

(3) 腋芽形成過程における幹細胞抑制因子の同定および機能解析

fon2 変異体では、野生型と比較して、腋芽形成の初期過程における幹細胞マーカーの発現領域が顕著に拡大した。また、*FON2* 過剰発現体では、腋芽分裂組織の形成が阻害された。これらの結果から、*FON2* 遺伝子が、腋芽形成過程において幹細胞運命の抑制因子として働いていることが示唆された。その他にも、*fon2* 変異体において *TAB1* 遺伝子の発現領域が拡大することを明らかにした。*FON2* 遺伝子は、腋芽形成の初期過程において、*TAB1* 遺伝子の発現を負に制御することで幹細胞集団を一定のサイズに維持していると考えられる。

今回明らかになったイネの *FON2* - *TAB1* 経路だが、シロイヌナズナでは、同様な *CLV3* - *WUS* のシグナル伝達経路が、茎頂分裂組織において幹細胞維持を担っている。一方、イネの茎頂分裂組織では、*TAB1* 遺伝子は発現していない。本研究結果から、シロイヌナズナの茎頂分裂組織で使われている幹細胞維持のシグナル経路が、イネの進化の過程で、腋芽形成という非常に限られた発生ステージにおいて役割を果たすようになったと考えている。

(4) 腋芽形成を制御する新たな因子の同定および機能解析

まず、*tob1* 単独変異体や、*tob1* 変異体において *TOB2* と *TOB3* 遺伝子の発現をそれぞれ

れ単独で抑制した形質転換体では、側枝形成に顕著な異常は観察されなかった。次に、*tob1* 変異体において *TOB2* と *TOB3* 遺伝子の発現を同時に抑制した。その結果、側枝形成が強く阻害された。この結果から、3つの *TOB* 遺伝子が冗長的に働き、腋芽形成あるいはその後の腋芽伸長に参与している可能性が示唆された。次に、それら *TOB* 遺伝子群の発現パターンを解析した結果、非常に類似した時空間的な発現パターンを示すことが明らかになった。3つの *TOB* 遺伝子は、葉原基において初期から特異的な発現パターンを示したが、茎頂分裂組織や腋芽分裂組織では全く発現しなかった。これらの結果から、*TOB* 遺伝子群は、何らかのシグナルを介して葉原基から腋芽分裂組織に作用し、腋芽形成あるいはその後の側枝形成に参与していると考えられる。その他にも、生殖成長期におけるこれら *TOB* 遺伝子群の機能を明らかにした。本研究成果に関する論文が *New Phytologist* 誌に受理された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計1件)

(査読有り)

[Wakana Tanaka](#), Taiyo Toriba, and Hiro-Yuki Hirano (2017). Three *TOB1*-related *YABBY* genes are required to maintain proper function of the spikelet and branch meristems in rice. *New Phytologist*, 215 (2), 825-839. DOI: 10.1111/nph.14617.

〔学会発表〕(計6件)

- (1) [田中 若奈](#)、[平野 博之](#) “イネの腋芽形成過程における幹細胞維持の制御メカニズム”
日本育種学会 第135回講演会、千葉 (2019年3月16日-17日)
- (2) [田中若奈](#)、[平野博之](#) “イネの腋芽幹細胞の確立と維持機構”
第60回日本植物生理学会年会、名古屋 (2019年3月13-15日)
- (3) [田中若奈](#)、[平野博之](#) “イネのブランチ形成における幹細胞制御因子の分子遺伝学的解析”
日本遺伝学会第90回大会、奈良 (2018年9月19-21日)
- (4) [田中若奈](#)、[平野博之](#) “イネの腋芽形成におけるメリステム関連遺伝子の役割”
日本育種学会第133回講演会、博多 (2018年3月25-26日)
- (5) [田中若奈](#)、[鳥羽大陽](#)、[平野博之](#) “イネの *TOB1* 様 *YABBY* 遺伝子は全ての生殖成長期のメリステムを制御する”
第58回日本植物生理学会年会、鹿児島 (2017年3月16-18日)
- (6) [田中若奈](#)、[平野博之](#) “イネの段階的な腋芽形成を制御する遺伝子の解析”
日本遺伝学会第88回大会、三島 (2016年9月7-9日)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計0件)

取得状況 (計0件)

〔その他〕

新聞への発表論文に関する記事の掲載

日経産業新聞「イネの花作る遺伝子特定、東大、収量性をめざす」平成29年6月6日

6. 研究組織

(1)研究分担者

なし

(2)研究協力者

研究協力者氏名：平野 博之

ローマ字氏名：Hirano Hiro-Yuki

所属研究機関名：東京大学

部局名：大学院理学系研究科

職名：教授

研究者番号(8桁): 00192716

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。