

平成 21 年 5 月 28 日現在

研究種目：基盤研究（B）  
 研究期間：2006～2008  
 課題番号：18370014  
 研究課題名（和文） 腋芽の形成を制御する分子メカニズムの解析  
 研究課題名（英文） Analysis of molecular mechanisms controlling axillary meristem formation and development

## 研究代表者

経塚 淳子（KYOZUKA JUNKO）  
 東京大学・大学院農学生命科学研究科・准教授  
 研究者番号：90273838

## 研究成果の概要：

植物は分枝(枝分かれ)を繰り返すことにより複雑なからだづくりを実現する。本研究では、イネを研究対象として枝別れの形成や成長に関わる遺伝子を単離し、それらの機能を解析した。腋生メリステム形成に必須である LAX タンパク質が細胞間を移行してメリステム細胞の増殖を促進すること、サイトカイニンがメリステム活性の維持に必須であることを明らかにした。また、腋生メリステムの花メリステムへの転換の制御に関わる遺伝子ネットワークを解析した。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	6,200,000	1,860,000	8,060,000
2007年度	5,800,000	1,740,000	7,540,000
2008年度	2,900,000	870,000	3,770,000
年度			
年度			
総計	14,900,000	4,470,000	19,370,000

## 研究分野：植物分子遺伝学

科研費の分科・細目：基礎生物学・植物分子生物・生理学

キーワード：植物成長、分枝形成、茎頂メリステム（SAM）、腋生メリステム（AM）、メリステムアイデンティティー、イネ、

## 1. 研究開始当初の背景

植物は分枝（枝分かれ）を繰り返すことにより複雑なからだづくりを実現する。地上部では、葉の腋に腋生分裂組織とよばれる新しいメリステムが作られることにより分枝形成が始まる。形成された腋生メリステムは腋芽となり、腋芽は遺伝的に定められたプログラムにより分枝として成長する。イネでは、栄養成長期における腋芽形成の進行がきわめて規則的であり、さらに生殖成長期には異なる階

層の腋芽が次々に作られ、それぞれが遺伝的プログラムに従って分化・成長することにより穂が形作られる。したがって、イネは分枝形成機構の研究対象として適している。

## 2. 研究の目的

本研究では、分枝の形成・成長を決定する要因を、「腋生メリステムの形成」、「腋生メリステム活性の維持」、「腋芽の分化

運命の決定」の3つに分け、その制御機構に関してイネをモデルとして総合的な研究を進める。

(1)「腋生メリステムの形成」に関わる遺伝子の解析

最近、2つの器官の境界領域で発現する遺伝子が植物の発生や分化において重要な役割を果たしていることが明らかになりつつある。第1の課題では、境界領域およびそこで発現する遺伝子群が腋生メリステムの形成を制御するしくみを分子レベルで解明することを目的とする。具体的には、腋生メリステムとSAMの境界で発現するLAX遺伝子が腋生メリステムでの細胞増殖を維持する機構を、境界領域の形成、境界領域およびそこで発現する遺伝子の機能、境界と腋芽のコミュニケーションに着目して解析する。

(2)「腋生メリステム活性の維持」に関わる遺伝子の解析

腋生メリステムの活性の維持にかかわる遺伝子とその働きを明らかにする。

(3)「腋芽の分化運命(アイデンティティー)の決定」に関わる遺伝子の解析

花も枝のひとつである。すなわち、腋生メリステムが花芽としてのアイデンティティーを獲得すると花が形成される。腋生メリステムが枝としてのアイデンティティーを獲得した場合は、腋芽は枝として成長し、さらに次の段階の側生器官を作る。したがって、花芽としてのアイデンティティーの決定は枝別れパターンを決める重要な要因である。そこで、これについても遺伝学的な解析を進める。

3. 研究の方法

(1)については、まず、腋生メリステムが形成される過程を分子マーカーを用い、*in situ* ハイブリダイゼーション法により詳細に記述する。また、LAX遺伝子がどの段階で働くのかを明らかにする。さらに、GFP遺伝子を利用して、LAXタンパク質の局在を明らかにする。

(2)、(3)の項目に関しては、それぞれの過程が異常な変異体を選抜し、原因遺伝子の単離や機能解析を行う。

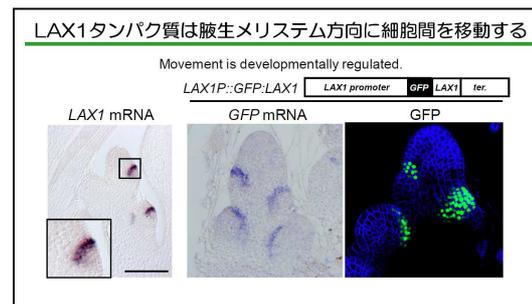
4. 研究成果

(1) 腋生メリステム形成を制御するLAX

遺伝子の作用部位の決定

腋生メリステム形成に必要なLAX遺伝子は、bHLHドメインを持つ転写因子をコードする。*lax*変異体では腋生メリステムが作られないことから、LAXの機能は腋生メリステムが形成される部位で発揮されると考えられたが、予想に反してLAX mRNAは腋生メリステムと葉の境界に局在していた。このため、LAXが細胞非自律的に働いていると考え、GFPを利用してLAXタンパク質の局在を調べた。LAX遺伝子を含むゲノム配列にGFPを挿入し*lax*変異体に導入したところ、*lax*変異は完全に相補された。GFP蛍光はmRNAが局在する領域よりも腋生分裂組織の方向にずれていた。したがって、LAXタンパク質が細胞間を異動していること、その移動には方向性があることが明らかになった。

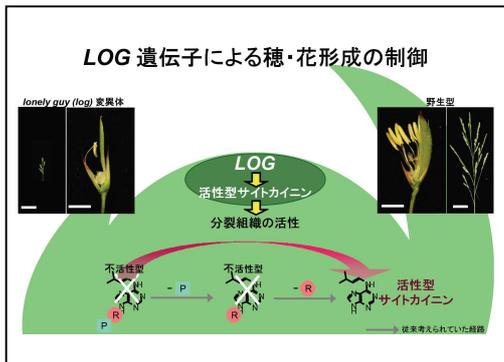
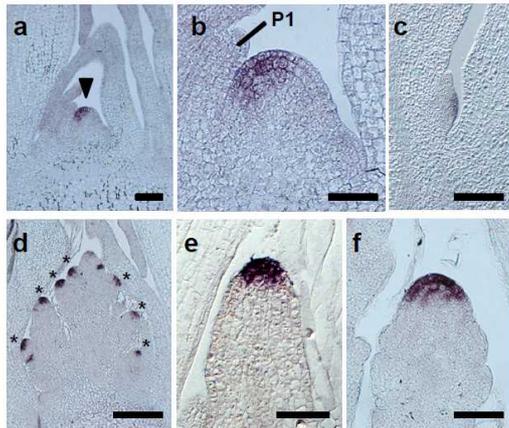
また、LAXタンパク質の細胞間移動がLAXの機能にとって必須かどうかを調べるために、3つのGFP遺伝子をLAXにつなぎ(3xGFP:LAX)*lax*変異体に導入した。その結果、3xGFP:LAXタンパク質は転写された境界領域にとどまること、また機能が不完全であることが明らかになった。



(2)メリステム活性の維持におけるサイトカイニンの役割

*lonely guy (log)* 変異体ではおしべやめしべなど花の内側にある器官の数が減少する。また、形成される花芽数も減少するために、穂(花序)もとても小さい。*log*変異体では発芽直後から茎頂メリステムが小さく、扁平であった。また、花分メリステムでは花器官形成途上でメリステムとしての活性が失われていた。ポジショニングクローニングによって単離したLOG遺伝子は細菌を含む広い生物に保存されている機能未知のタンパク質をコードしていた。理研植物科学センターの榊原均博士との共同研究により、LOG遺伝子はサイトカイニン合成の最終ステップである、ヌクレオチド型サイトカイニンからのヌクレオチドの離脱を触媒する酵素であることが明らかになった。従来、この反応は脱リン酸化と脱ヌクレオチドの2段階を経

ると考えられていたが、LOGは1段階で行う。LOGはイネでもシロイヌナズナでも約10遺伝子からなるファミリーを作っている。LOGは茎頂メリステムの先端部分の非常に限られた領域で発現する。これらの結果は、サイトカニンがメリステムの活性に必須であることの直接的な証拠となった。また、LOGは茎頂メリステムの先端で局所的に不活性型のサイトカニンを活性型に変換することにより、茎頂メリステムの維持に必要なサイトカニンを供給していると考えられる。

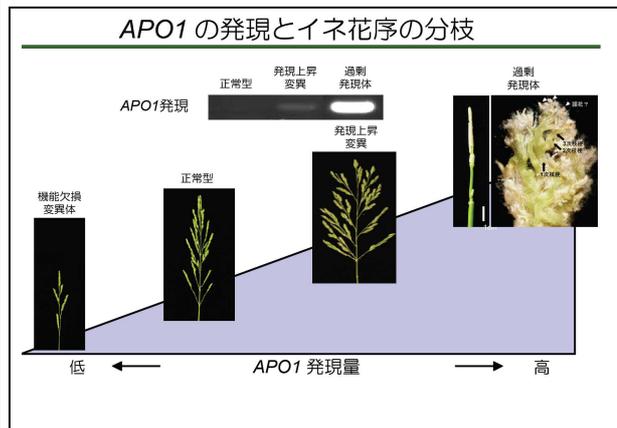


(3) 花芽アイデンティティーへの転換が遅れる *TAWAWA4(TAW4)* 変異体の解析

花芽アイデンティティー決定に異常があると予想される優性の変異体を単離し、*TAWAWA4 (TAW4)* と名付けた。*TAW4* では、*ABERRANT PANICLE ORGANIZATION1 (APO1)* 遺伝子のプロモーター領域にトランスポゾン *nDart* が挿入した結果、*APO1* の発現量が増加していた。*APO1* はシロイヌナズナ *UNORGANIZED FLORAL ORGANS (UFO)* のオーソログであり、Fボックスタンパク質をコードする (Ikeda et al. 2007) ところが、*UFO* や双子葉植物のオーソログが花メリステムへの転換を促進するのは逆に、*APO1* は小穂(イネの花)メリステムへ

の転換を抑制する。*APO1* 発現量が増加した優性変異体 (*TAW4, apo1-D*) および過剰発現体の解析から、小穂メリステムへの転換抑制の程度は *APO1* 発現量に依存することを明らかにした。また、イネでは、栄養成長から生殖への転換時にメリステムでの細胞分裂がさかんになりメリステムのサイズが急激に増加するが、この細胞数増加程度が *APO1* 発現量に依存することも明らかになった。したがって、*APO1* は、*APO1* はメリステムでの細胞増殖を促進する機能を果たすことが示唆された。

シロイヌナズナではメリステムの花メリステムへの転換が *TERMINAL FLOWER1 (TFL1)* 遺伝子によって抑制されている。イネには *TFL1* と高い相同性を持つ遺伝子が4つあり (*RCN1* から4) これらを35Sプロモーターなどで構成的に発現させると、メリステムの相転換が著しく遅れる。したがって、イネでは *APO1* と *RCN* が同様の機能を持つ。*RCN* と *APO1* の関係を探るために、*apo1* 変異体に *35S:RCN2* を導入したところ、*apo1* 変異体でも野生型背景と同様に生殖成長への転換が遅延したが、小穂メリステムへの転換は *apo1* 変異体と同様に早まった。したがって、*APO1* は、小穂メリステムへの転換に関しては *RCN* の下流で働き、生殖成長への転換については *APO1* と *RCN* は独立に機能すると考えられた。シロイヌナズナでは *UFO* は *LFY* と直接相互作用し *LFY* の転写活性化能を調節する。イネでも *APO1* と *RFL (LFY* オースログ) が相互作用することを確認した。



5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 11 件)

Ikeda Kawakatsu K, Yasuno N, Oikawa T, Iida S, Nagato Y, Maekawa M, Kyozuka J. Expression Level of *ABERRANT PANICLE ORGANIZATION 1* determines rice inflorescence form through control of cell proliferation in the meristem. *Plant Phys.* (2009 in press) 査読有

Oikawa T, Kyozuka J, Two-step regulation of protein accumulation in axillary meristem formation in rice. *Plant Cell* 21: 1095-1108 (2009) 査読有

Li S, Qian Q, Fu Z, Zeng D, Meng X, Kyozuka J, Maekawa M, Zhu X, Zhang J, Li J, Wang Y. Short panicle1 encodes a putative PTR transporter and determines rice panicle size. *Plant J.* (2009, in press) 査読有

Umehara M, Hanada A, Yoshida S, Akiyama K, Arite T, Takeda Kamiya N, Magome H, Kamiya Y, Shirasu K, Yoneyama K, Kyozuka J, Yamaguchi S. Inhibition of shoot branching by new terpenoid plant hormones. *Nature* 455: 195-200 (Article) (2008) 査読有

Kurakawa T, Ueda N, Maekawa M, Kobayashi K, Kojima M, Nagato Y, Sakakibara H, Kyozuka J. Direct control of shoot meristem activity by a cytokinin activating enzyme. *Nature* 445: 652-655 (2007) 査読有

Arite T, Iwata H, Ohshima K, Maekawa M, Nakajima M, Kojima M, Sakakibara H, Kyozuka J. *DWARF10*, an *RMS1/MAX4/DAD1* ortholog, controls lateral bud outgrowth in rice. *Plant J.* 51: 1019-1029 (2007) 査読有

Morita Y, Kyozuka J. Characterization of *OsPID*, the rice ortholog of *PINOID*, and its possible involvement in the control of polar

auxin transport. *Plant Cell Physiol.* 48: 540-549 (2007) 査読有

Kinoshita A, Nakamura Y, Sasaki E, Kyozuka J, Fukuda H, Sawa S. Gain-of-Function Phenotypes of Chemically Synthetic CLAVATA3/ESR-Related (CLE) Peptides in *Arabidopsis thaliana* and *Oryza sativa*. *Plant Cell Physiol.*, 48: 1821-1825 (2007) 査読有

Yan H, Saika H, Maekawa M, Takamura I, Tsutsumi N, Kyozuka J, Nakazono M. Rice tillering dwarf mutant *dwarf3* has increased leaf longevity during darkness-induced senescence or hydrogen peroxide-induced cell death. *Genes Genet. Syst.*, 82: 361-366 (2007) 査読有

Ikeda K, Ito M, Nagasawa N, Kyozuka J, Nagato Y. Rice *ABERRANT PANICLE ORGANIZATION 1*, encoding an F-box protein, regulates meristem fate. *Plant J.* 51: 1030-1040 (2007) 査読有

Furutani I, Sukegawa S, Kyozuka J. Genome-wide analysis of spatial and temporal gene expression in rice panicle development. *Plant J.* 46: 503-511 (2006) 査読有

[学会発表](計 約 40 件)

[図書](計 2 件)

著書  
遺伝のしくみ、監修、新星出版社、2008年

シヨーン・B・キャロル著『シマウマの縞蝶の模様』共訳、光文社、2007年

6. 研究組織

(1) 研究代表者

経塚 淳子

東京大学・大学院農学生命科学研究科・准教授

研究者番号：90273838

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし