

令和 5 年 6 月 16 日現在

機関番号：21401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K05973

研究課題名(和文) イネ茎頂分裂組織におけるパターン形成機構の分子遺伝学的モデル基盤構築

研究課題名(英文) Molecular genetic modeling of pattern formation in rice shoot apical meristem

研究代表者

永澤 奈美子(佐藤奈美子)(Satoh-Nagasawa, Namiko)

秋田県立大学・生物資源科学部・准教授

研究者番号：00535289

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)：ユニークな地上部器官分化パターン異常「双極葉」を生じる複数のイネ変異体を解析することで、SAMにおいて異所的な葉原基の分化抑制に関与する新規マスター調節遺伝子の機能と相互関係についての知見を得た。ABL遺伝子の中には、これまでに分裂組織の発生と関わることで知られていないタンパク質をコードするものも含まれていた。分裂組織の分化制御様式がユニークなものであると推測されるABL4遺伝子もその一つである。さらにコードするタンパク質から判断すると一見無関係とも判断できるABL遺伝子同士が、独立な関係ではなく、間接的ながら相互関係を持ちながら機能していることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

植物の形を決める際に最も重要な役割を果たす分裂組織という器官の分化パターンを制御する新規マスター調節遺伝子の機能と相互関係を明らかにした。本研究における成果は、植物の形を自由にデザインするために必須の知見であるだけでなく、今後の植物の分裂組織についての発生遺伝学的研究の基盤となる。

研究成果の概要(英文)： We analyzed multiple rice mutants that produce a unique abnormal aboveground organ differentiation pattern, "adaxial-abaxial bipolar leaves (abl)." It provided insights into the function and interrelationships of novel master regulatory genes, ABL genes. They involved in suppressing differentiation of ectopic meristem. Some of the ABL genes encoded proteins not previously known to be involved in meristem development. One such gene is ABL4, which is postulated to have a unique mode of regulation of meristem differentiation. Furthermore, the ABL genes, which seem to be unrelated to each other judging from the proteins they encode, were found to function not independently but in an indirect but reciprocal relationship.

研究分野：植物発生遺伝学

キーワード：イネ 分裂組織 変異体

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

植物は動物と異なり、生涯を通じてパターン形成を行いながら新たな器官を形成し続ける。その活動にたずさわるのが茎頂分裂組織 (shoot apical meristem (SAM)) である。つまり、植物地上部すべての器官は SAM に由来する。SAM における器官分化のしくみについては、これまでにシロイヌナズナにおいて膨大な分子遺伝学的研究がなされ、オーキシンなどの重要性が明らかにされてきた (reviewed in Barton Dev. Biol. 2010、Laux et al. Curr. Opin. Plant Biol. 2014)。一方、シロイヌナズナの花突然変異体の解析では、マスター調節遺伝子が各花器官の分化を制御しているという遺伝学的モデルが示され、動物同様植物の発生においてもマスター調節遺伝子が重要であることが再確認された (reviewed in Causier et al. Semin. Cell Dev. Biol. 2010)。しかし、SAM におけるパターン形成に関しては、いかなる植物種においても上記花の発生の遺伝学的モデルに匹敵するものはこれまでに提示されていない。

そのような状況下の 2012 年、申請者らは、ユニークな地上部分化パターン異常を起こした優性のイネ *adaxial-abaxial bipolar leaf (abl) 1* 突然変異体を発見した。この突然変異体では

第 4 葉背軸側に異所的に形態の正常な葉が分化し、背軸側を本来の第 4 葉と共有し 1 枚の葉「双極葉」として発生していた (図 1B)。この表現型から申請者らは、ABL 遺伝子が SAM において異所的な葉原基分化抑制に関わる新規マスター調節遺伝子であり、SAM におけるパターン形成機構に未知な部分が

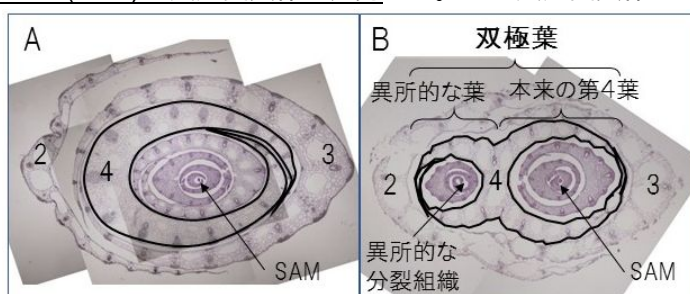


図 1 野生型 (A) および *abl1-d* 突然変異体 (B) の横断切片
数字は葉位を示し、第 4 葉の縁を実線で囲んである。

残されていることを確信した。そこで、まず「双極葉」に着目してスクリーニングを進め、SAM で機能するマスター調節遺伝子の網羅的同定を開始することとした。

2. 研究の目的

本研究の目的は、ユニークな地上部器官分化パターン異常「双極葉」を生じる複数のイネ *abl* 突然変異体を解析することで、SAM において異所的な葉原基の分化抑制に関与する新規マスター調節遺伝子の機能と相互関係および植物ホルモンとの関係性を解明することである。

3. 研究の方法

(1) *ABL4* 遺伝子の単離および変異体の形態観察

ABL 遺伝子の機能を分子レベルで包括的に解明するため、まず未単離の *ABL4* 遺伝子を同定した。従来の DNA マーカーを用いた遺伝子マッピングおよび次世代シケンシングデータを利用した。アレルの単離も行った。アレルごとに切片作成などを行い、形態観察を行った。

(2) *ABL* 遺伝子の mRNA 発現領域の調査

ABL 遺伝子の機能部位を明らかにするため、*in situ* hybridization によって mRNA の発現組織特異性を調査した。

(3) *abl2* 変異のサプレッサーの同定

ABL2 遺伝子の下流で機能する遺伝子を同定するため、サプレッサースクリーニングを行った。*abl2* 突然変異体劣性ホモ個体に変異源処理を行い、その後代で「双極葉」が消失する表現型回復系統を探索した。

(4) *ABL* 遺伝子同士の二重突然変異体の解析

マスター調節遺伝子の相互関係を明らかにするため、二重突然変異体における「双極葉」の形成頻度や形態、SAM の形態観察を行った。

4. 研究成果

まず、これまでに単離され純化された *abl* 変異体の原因遺伝子のうち唯一見単離であった *ABL4* 遺伝子の同定を行ったところ、MPS ONE BINDER KINASE ACTIVATOR-LIKE 1A タンパク質をコードすることが明らかになった。変異体としては、エキソン-イントロン境界部位およびスタートコドンから約 35bp 上流に変異が入った、2 アリルが解析に使用された。さらに、2 アリルの形態観察を行ったところ、イネでは通常 1 ファイトマーには 1 個の腋芽 (分裂組織) しか形成されないところ、いずれのアリルでも、1 ファイトマーに複数の分裂組織が形成されている場合が高頻度で見られた。これまで同定されている *abl* 変異体における異所的な分裂組織も、*abl4* 変異体で見られたようなパターンでは形成されていなかった。したがって、*ABL4* 遺伝子の異所的な分裂組織分化制御様式は、他の *ABL* 遺伝子とは異なる新規なものである可能性が示唆された。

次に、*ABL* 遺伝子の mRNA 発現領域の調査では、ヒスチジンキナーゼをコードする *ABL1* 遺伝子は、SAM で分化し生長した最も若い葉原基の先端および葉縁で強く発現していた。また、SAM 内でも若干発現していた。さらに若い葉ではドット状の発現パターンが見られた。*Class HD-ZIP* 遺伝子をコードしていることが明らかになった *ABL2* 遺伝子は、これまでにすでに報告されているように、葉原基の向軸側で強い発現が見られた。*abl1-d* 変異体および *abl2* 変異体では、第 4 葉葉原基の腋に新たな分裂組織が生じ、それが「双極葉」形成の原因となっている。つまり、*ABL1* 遺伝子および *ABL2* 遺伝子の発現領域は、新たな分裂組織が生じる領域と完全には重なっていないが、非常に近接していることが明らかになった。

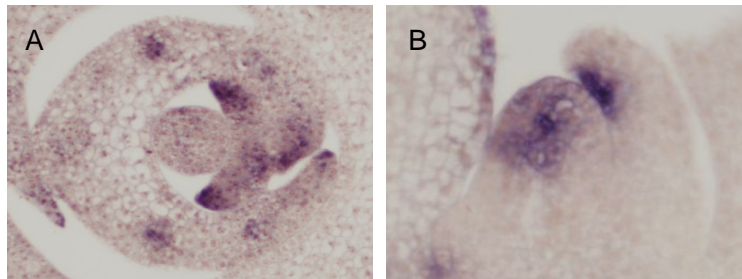


図 2 イネ apex 横断面における *ABL1* 遺伝子の発現 (A) およびイネ apex 縦断面における *ABL2* 遺伝子の発現 (B)

abl2 変異のサプレッサーとしては、7 系統が単離された。今後の遺伝子同定により、*ABL2* 遺伝子の下流で機能する遺伝子が明らかになる。

最後に、*abl* 変異体同士の二重変異体の解析を行ったところ、*abl1-abl2*、*abl2-abl3*、*abl2-abl4*、*abl3-abl4* 間、それぞれで相乗的な表現型が見られた。したがって、これまでに同定されている *ABL* 遺伝子の多くは、互いに間接的に相互作用しながら、異所的な分裂組織の形成に関わっていると考えられた。

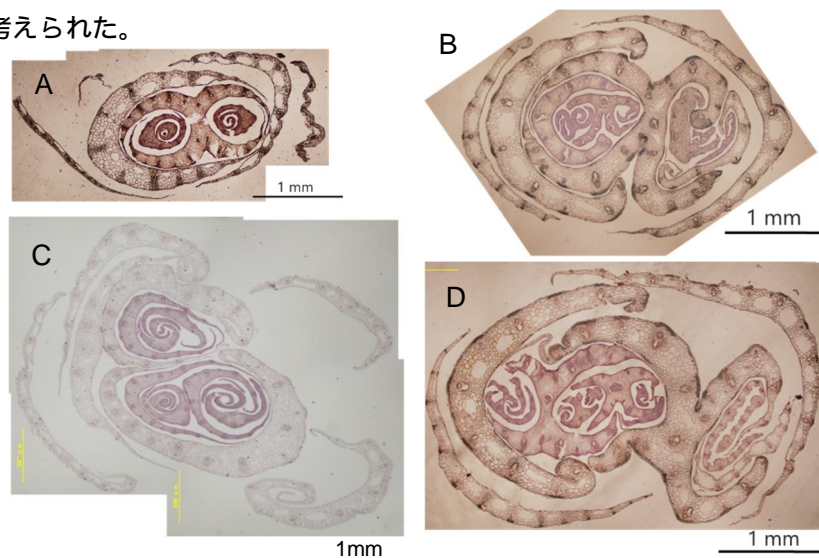


図 3 *abl2* 単一変異体 (A)、*abl3* 単一変異体 (B)、*abl1-d* *abl2* 二重変異体 (C) および *abl2* *abl3* 二重変異体 (D) の apex 付近内部構造

ABL 遺伝子の中には、他のモデル植物での知見も含め、これまでに分裂組織の発生と関わることが知られておらず、タンパク質をコードするものも含まれており、本研究においてそれが初めて明らかになった。分裂組織の分化制御様式がユニークなものであると推測される *ABL4* 遺伝子もその一つである。さらにコードするタンパク質から判断すると一見無関係とも判断できる *ABL* 遺伝子同士が、独立な関係ではなく、何らかの相互関係を持ちながら機能していることが明らかになった。これらの知見は、植物の分裂組織分化のしくみを分子遺伝学的に解明するうえで、今後の研究の基盤となる。

なお、*ABL* 遺伝子と植物ホルモンの関係性を調査するという課題については、蛍光タンパク質を利用した研究材料を準備したところで本研究期間が終了してしまった状態であるため、今後その材料を活かして研究を進める。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 永澤信洋, 佐藤優理子, 佐藤(永澤)奈美子	4. 巻 9
2. 論文標題 MNUを用いたイネの受精卵への突然変異誘発法 : 簡易なMNU 処理法とM1 世代で出現した異常な個体について	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 秋田県立大学ウェブジャーナルA	6. 最初と最後の頁 101.105
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Claeys Hannes, Vi Son Lang, Xu Xiaosa, Satoh-Nagasawa Namiko, Eveland Andrea L., Goldshmidt Alexander, Feil Regina, Beggs Grace A., Sakai Hajime, Brennan Richard G., Lunn John E., Jackson David	4. 巻 5
2. 論文標題 Control of meristem determinacy by trehalose 6-phosphate phosphatases is uncoupled from enzymatic activity	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Plants	6. 最初と最後の頁 352 ~ 357
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41477-019-0394-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 菊地美希, 岡本理沙, 山崎 荘, 春原英彦, 我彦廣悦, 永澤信洋, 佐藤(永澤)奈美子
2. 発表標題 イネのシュート形成におけるOryza sativa Smith-like1遺伝子機能の解析
3. 学会等名 日本育種学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐藤 理絵, 春原 英彦, 伊藤 純一, 我彦 廣悦, 永澤 信洋, 佐藤(永澤) 奈美子
2. 発表標題 イネadaxial-abaxial bipolar leaf 2 変異体を用いた異所的メリステム分化抑制機構についての分子遺伝学的解析
3. 学会等名 日本育種学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 菊地美希、岡本理沙、山崎荘、春原英彦、我彦廣悦、永澤信洋、佐藤（永澤）奈美子
2. 発表標題 イネの葉分化パターン制御におけるOryza sativa Smith-like1遺伝子の機能推定
3. 学会等名 東北植物学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐藤 理絵、春原 英彦、我彦 廣悦、永澤 信洋、佐藤（永澤） 奈美子
2. 発表標題 なぜadaxial-abaxial bipolar leaf 2変異体で双極葉が形成されるのか？
3. 学会等名 東北植物学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山崎荘、菊地美希、春原英彦、我彦廣悦、永澤信洋、佐藤（永澤）奈美子
2. 発表標題 極性異常の葉を形成するイネadaxial-abaxial bipolar leaf 4変異体の解析
3. 学会等名 東北植物学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 千葉海大・手塚拓海・檜本悟史・永澤信洋・佐藤（永澤）奈美子
2. 発表標題 イネ双極葉変異体の原因遺伝子のゼニゴケオルソログMpABL1強制発現体の解析
3. 学会等名 東北植物学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 鍋田卓摩・根本史弥・永澤信洋・佐藤（永澤）奈美子
2. 発表標題 葉に新規パターン異常を示すイネ変異体の表現型の解析
3. 学会等名 東北植物学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大依 宇・佐藤（永澤）奈美子・土田 桃華・永澤 信洋
2. 発表標題 lax2-5を品種Kasalathと交配した後代に見られる枝梗を繰り返し分枝する系統の遺伝学的解析
3. 学会等名 日本育種学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 清水陽哉・永澤信洋・佐藤（永澤）奈美子
2. 発表標題 イネADAXIAL-ABAXIAL BIPOLAR LEAF遺伝子間相互関係の遺伝学的解析
3. 学会等名 日本育種学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 千葉海大・手塚拓海・榎本悟史・永澤信洋・佐藤（永澤）奈美子
2. 発表標題 イネ双極葉変異体の原因遺伝子のゼニゴケオルソログmpab12変異体の解析
3. 学会等名 日本植物生理学会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	伊藤 純一 (Itoh Jun-ichi) (30345186)	東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・准教授 (12601)	OSHB3遺伝子解析
研究分担者	春原 英彦 (Sunohara Hidehiko) (60751758)	熊本大学・大学院先端科学研究部(理)・特任助教 (17401)	データ解析
研究分担者	永澤 信洋 (Nagasawa Nobuhiro) (90599268)	秋田県立大学・生物資源科学部・准教授 (21401)	ab12サブレッサー解析

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------