

機関番号：63904

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2010

課題番号：21770071

研究課題名（和文） 単面葉における葉身の平面成長性の遺伝的制御機構

研究課題名（英文） Genetic mechanism of leaf blade flattening in unifacial leaves

研究代表者

山口 貴大（YAMAGUCHI TAKAHIRO）

基礎生物学研究所・植物発生遺伝学研究部門・助教

研究者番号：60450201

研究成果の概要（和文）：葉の平面化は効率の良い光受容に必須であるが、その機構は両面葉と単面葉で異なる。本研究では、単面葉の平面化を制御する遺伝的機構の解明を目的として、イグサ属植物を用いた分子遺伝学的研究を行った。その結果、単面葉の平面化は複数遺伝子の相互作用によって制御されることを明らかにするとともに、具体的な制御遺伝子の1つとして、*DROOPING LEAF (DL)* 相同遺伝子を同定することに成功した。さらに得られた研究結果を統合し、単面葉の平面化の遺伝的モデルを提唱した。

研究成果の概要（英文）：Angiosperm leaves generally develop as bifacial structures with distinct adaxial and abaxial identities. However, several monocot species, such as iris and leek, develop unifacial leaves, in which leaf blades have only abaxial identity. In bifacial leaves, adaxial-abaxial polarity is required for leaf blade flattening, whereas many unifacial leaves become flattened despite their leaf blades being abaxialized. Here, I investigated the mechanisms underlying the development and evolution of flattened leaf blades in unifacial leaves. I demonstrated that an ortholog of the *DROOPING LEAF (DL)* gene may promote flattening of the unifacial leaf blade. Based on the results, I proposed genetic model for the leaf blade flattening in unifacial leaves.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：植物発生進化学

科研費の分科・細目：基礎生物学・形態・構造

キーワード：発生・進化・単子葉植物・単面葉・葉の極性・葉の平面成長

## 1. 研究開始当初の背景

葉は一般的に向背軸（表裏）の極性をもつ平たい構造をしめし、このような葉を「両面

葉」という。一方アヤメ科やネギ科植物等、いくつかの単子葉植物は、「単面葉」という葉身が背軸面だけで構成される葉を持つ。この単面葉の発生進化機構は、古くから古典形態学分野で謎とされてきたが、遺伝子レベルの研究は全く手つかずの状態であった。

申請者は、単面葉の発生進化機構の解明に向けて、イグサ科イグサ属植物に着目した研究を開始した。その研究過程で大きな謎として浮上したのが、単面葉が平面化する機構である。なぜならば、両面葉は向軸側と背軸側運命の境界面で細胞増殖が促進されることで平面成長し、光受容に適した平たい構造になると考えられており、突然変異等で裏側化してしまうと、平面成長することが出来ないために、葉は丸くなることが知られている。しかしながら、単面葉をもつ多くの種は平たい葉身を持つ。したがって、単面葉は両面葉とは異なる独自の機構により平面化し、平たい葉身は両面葉と単面葉で独立に進化したと考えられるが、単面葉が平面化する機構は全く明らかにされていなかった。

## 2. 研究の目的

本研究では単面葉の平面化制御に関わる遺伝子群を同定し、その遺伝的プログラムを解明することを目的とした研究を行った。

単面葉の平面化機構解明は発生学的に重要な課題である。また、異なる機構で同様の形質が進化する収斂進化といわれる現象は、生物進化の過程で広く見られるものの、その遺伝的背景はほとんど明らかになっていない。したがって単面葉の平面化機構を解明することにより、収斂進化の遺伝子背景という、進化学的にも重要な問題にアプローチできると期待できる。

## 3. 研究の方法

2種のイグサ属植物、コウガイゼキショウとハリコウガイゼキショウを用いた分子遺伝学的研究を行った。これら2種は互いに最も近縁であるが、葉身の平面性に違いをしめし、コウガイゼキショウは平たい単面葉を持つのに対し、ハリコウガイゼキショウは、棒状で丸い単面葉を持つ。そこでこれら2種間の葉身の平面性の違いの原因となる遺伝子を同定しようと試みた。

具体的には、2種間の葉において発現レベルや発現パターンの異なる遺伝子群を同定し、次に、2種間の種間雑種を作成することで、それら遺伝子群の遺伝子型と葉の平面性の連鎖関係を解析し、単面葉の平面性の遺伝解析を行った。

## 4. 研究成果

まずモデル植物において葉の発生制御に関わることが知られている遺伝子群に着目し、コウガイゼキショウとハリコウガイゼキショウから、それらの相同遺伝子を網羅的に単離した。具体的には *HD-ZIPIII* 遺伝子群、*ARF3* 遺伝子群、*YABBY* 遺伝子群、*KANADI* 遺伝子群、*PRESSED FLOWER (PRS)* 遺伝子群である。

次にこれら遺伝子群について、2種の葉の発生過程における発現パターンを、*in situ hybridization* 法により比較した。その結果、*YABBY* 遺伝子群の1つである *DL* 遺伝子、そして *PRS* 遺伝子の1つ (*PRsb*) に関して、2種間で顕著な発現パターンの違いが観察された。具体的には、両遺伝子ともコウガイゼキショウでは葉身が平面化するステージで強い発現が見られるのに対し、ハリコウガイゼキショウでは発現が見られない、もしくは限定的に発現するだけであった。

次にコウガイゼキショウとハリコウガイゼキショウの種間雑種を作成することで葉の平たさの遺伝解析を試みた。その結果これら2種は交雑可能であり、F1雑種は稔性を持つことが明らかになった。そこで F2 世代、284 個体の葉の平たさを定量化するとともに、*DL* と *PRsb* の遺伝子型解析を行い、葉の平たさとの連鎖解析を試みた。その結果、*DL* の遺伝子型と葉の平たさには相関関係が見られ、*DL* がコウガイゼキショウ型ホモの場合は葉はより平たく、逆にハリコウガイゼキショウ型ホモの場合は葉はより丸く、そしてヘテロの場合はそれらの中間的な値になることが明らかになった。一方 *PRsb* の遺伝子型と葉の平たさの間には関連が見られなかった。

以上の結果から、*DL* は2種間の葉身の平たさの違いに直接的に関与することが明らかになった。さらに遺伝子型と遺伝子発現レベルの関係について解析を行ったところ、コウガイゼキショウの *DL* 遺伝子座は葉における発現活性が高いこと、そしてその原因としては、ハリコウガイゼキショウでは *DL* のプロモーター領域にゲノム再編が起こり、葉での発現に必要なシス配列の1つが失われた可能性が明らかになった。

さらに *DL* と *PRsb* 遺伝子に関する分子遺伝学的解析を行った所、*PRsb* 遺伝子は2種間の葉身の平面性の違いには関与しないものの、コウガイゼキショウ背景では *DL* 遺伝子の下流で機能し、単面葉の平面化に必要であることも示唆された。

また本研究過程で、葉の平面化は葉の中央-周縁の極性決定において、重要な鍵となるという、発生学的に重要な知見も得ることに

成功した。そして得られた結果を統合し、単面葉の平面化機構の遺伝的モデルを提唱することに成功した。

研究成果論文は、*Plant Cell* 誌の表紙に採択される等、国際的に高く評価された。今後は *DL* 遺伝子、特に *DL* プロモーター活性の進化に着目し、平たい単面葉の進化機構を解明する。また *DL* 以外の制御遺伝子群の同定とそれらの相互作用解析を進め、単面葉の平面化機構の全容を明らかにする。

#### 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 8 件)

- ① Ikeuchi M, Yamaguchi T, Kazama T, Ito T, Horiguchi G, Tsukaya H. (2011) ROTUNDIFOLIA4 regulates cell proliferation along the body axis in Arabidopsis shoot. **Plant & Cell Physiology** 52: 59–69. 査読有り
- ② Yamaguchi T, Yano S, Tsukaya H. (2010) Genetic framework for flattened leaf blade formation in unifacial leaves of *Juncus prismatocarpus*. **The Plant Cell** 22: 2141–2155. 査読有り
- ③ Toriba T, Suzaki T, Yamaguchi T, Ohmori Y, Tsukaya H, Hirano HY. (2010) Distinct regulation of adaxial-abaxial polarity in anther patterning in rice. **The Plant Cell** 22: 1452–1462. 査読有り
- ④ Nakayama H, Yamaguchi T, Tsukaya H. (2010) Expression patterns of *AaDL*, a *CRABS CLAW* ortholog in *Asparagus asparagoides* (Asparagaceae), demonstrate a stepwise evolution of *CRC/DL* subfamily *YABBY* genes. **American Journal of Botany** 97:591–600. 査読有り
- ⑤ Nelissen H, Groeve S, Fleury D, Neyt P, Bruno L, Bitonti B, Vandebussche F, Straeten D, Yamaguchi T, Tsukaya H, Jaeger G, Houben A, Lijsebettens M. (2010) Plant Elongator regulates auxin response genes during RNA polymerase II transcription elongation. **Proceeding of the National Academy of Science, USA** 107: 1678–1683. 査読有り

- ⑥ Yamaguchi T, Tsukaya H. (2010) Evolutionary and developmental studies of unifacial leaves in monocots: *Juncus* as a model system. **Journal of Plant Research** 123: 35–41. 査読有り

- ⑦ 山口貴大 (2009) 被子植物における葉の向背軸の極性制御と単面葉の発生進化. **Plant Morphology** 21: 79–85. 査読有り

- ⑧ Ishikawa M, Ohmori Y, Tanaka W, Hirabayashi C, Murai K, Ogihara Y, Yamaguchi T, Hirano HY. (2009) The spatial expression patterns of *DROOPING LEAF* orthologs suggest a conserved function in grasses. **Genes & Genetic Systems** 84: 137–146. 査読有り

[学会発表] (計 7 件)

- ① 山口貴大, 糠塚明, 塚谷裕一. 葉鞘が向軸側化する変異体を用いた単面葉の発生遺伝学的研究. 第 52 回日本植物生理学会年会. 2011 年 3 月 21 日 (仙台)
- ② 山口貴大. 裏しかない葉「単面葉」における平たい葉身の発生と進化. 日本生態学会第 58 回大会. 2011 年 3 月 8 日 (札幌)
- ③ 山口貴大, 塚谷裕一. 単面葉の発生進化の遺伝子基盤: 裏しかない葉を平たくするしくみ. 日本植物学会第 74 回大会. 2010 年 9 月 9 日 (春日井)
- ④ Yamaguchi T, Tsukaya H. Evo-devo of unifacial leaves in monocots: making of flattened leaf blades without adaxial-abaxial polarity. 21st International Conference on Arabidopsis Research. 2010 年 7 月 6–10 日 (横浜)
- ⑤ 山口貴大, 塚谷裕一. 単面葉における葉身の平面成長機構の遺伝学的モデル. 日本植物生理学会第 51 回年会. 2010 年 3 月 21 日 (熊本)

- ⑥ 山口貴大, 塚谷裕一. 単面葉の発生進化: 繰り返し進化と収斂進化の遺伝的背景. 日本植物生理学会第 73 回大会. 2009 年 9 月 19 日 (山形)
- ⑦ 山口貴大, 塚谷裕一. 単面葉における葉身の平面成長機構の遺伝学的解析. 日本植物形態学会第 21 回総会・大会. 2009 年 9 月 17 日 (山形)

[図書] (計 1 件)

- ① 塚谷裕一, 山口貴大 (2009) シロイヌナズナとイグサ属植物の葉の形態形成を究める **研究をささえるモデル生物** pp. 159-161 吉川寛, 堀寛編, 科学同人.

[その他]

報道関連情報

単面葉の平面化機構に関して

2010 年 8 月 6 日 科学新聞 1 面

2010 年 8 月 4 日 日経産業新聞 11 面

ホームページ等

<http://www.nibb.ac.jp/bioenv2/indexj.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

山口 貴大 (YAMAGUCHI TAKAHIRO)

基礎生物学研究所・植物発生遺伝学研究部門  
・助教

研究者番号: 60450201