

令和 6 年 6 月 21 日現在

機関番号：32665

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K05583

研究課題名(和文)ウリ科植物の巻きひげ形成におけるTCP転写因子の情報伝達機構

研究課題名(英文)The signaling mechanisms of TCP transcription factors in the tendril formation of Cucurbitaceae plants

研究代表者

水野 真二 (MIZUNO, Shinji)

日本大学・生物資源科学部・准教授

研究者番号：30466164

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：ウリ科植物の巻きひげは側枝が変態した器官である。メロンの生産現場では巻きひげの絡みつきが整枝誘引作業の妨げとなるため、一部の商用品種では巻きひげなし形質(ctl変異)が利用されている。本研究では同変異のファインマッピングを行い、TCP転写因子をコードするTCP1遺伝子の変異との対応を証明した。このTCP1/CTLタンパク質と相互作用するYABBY転写因子の機能を解析し、植物細胞内での核局在、発達中の巻きひげの背軸側における共発現、巻きひげにおける相対的な高発現量を明らかにした。これらの結果はウリ科の巻きひげ発達におけるTCP-YABBY間相互作用の重要性を示唆している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、TCP転写因子であるTCP1がメロンの巻きひげなし変異の原因遺伝子であることが証明された。同属のキュウリでも同様の知見があることから、TCP転写因子による巻きひげ形成の制御はウリ科植物全般に共通する機構であることがほぼ確実となり、スイカやカボチャといった他のウリ類でもTCP遺伝子を改変することで、巻きひげ欠損型の省力品種を育成できると考えられる。また、このTCPと相互作用する新たなYABBY転写因子の存在が明らかになったことは、ウリ科植物が側枝を巻きひげに変化させるために発達させた独自の情報伝達経路を理解する上で、新たな知見を提供するものである。

研究成果の概要(英文)：The cucurbit tendril is a metamorphosed organ derived from a lateral branch. In melon production, the entanglement of tendrils interferes with vine training, so the tendril-less trait (ctl mutation) is used in some commercial varieties. In this study, we performed fine mapping of the ctl mutation and confirmed its identity as a mutation in the TCP1 gene, which encodes a TCP transcription factor. We analyzed the function of the YABBY transcription factor, which interacts with the TCP1/CTL protein, to determine its nuclear localization in plant cells, co-expression on the dorsal side of juvenile tendrils, and relatively high expression levels in tendrils compared to leaves. These results indicate the importance of the TCP-YABBY interaction in the development of tendrils in Cucurbitaceae.

研究分野：園芸植物生理学

キーワード：メロン 巻きひげ 転写因子

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

高等植物の巻きひげ (Tendrils) は、科や属などを単位とする系統群特異的な進化を経て葉、花、茎などの器官が変形したものに由来する。巻きひげは周囲の他物に絡みつ়くことで植物体同士の束生やつる性植物のよじ登りを可能にし、野生環境下における太陽光の獲得競争を有利にする。園芸作物の中にも巻きひげを形成する品目は多くあり、ウリ科のメロンやキュウリ、マメ科のエンドウやスイートピー、ブドウ科のブドウが代表的である。これらの作物の生産現場では、巻きひげの絡みつきにより整枝・誘引作業が阻害されるケースがあるため、近年では自然突然変異に由来する巻きひげなし (Tendrils-Less、以下 TL) 形質を付与したメロンやスイートピーの実用品種が育成されている。

申請者らは、メロン (*Cucumis melo*) の TL 形質 (*ctl* 変異、図 1) の形態的解析とマッピングを進め、(1)メロンの巻きひげは側枝とその第 1 葉が変形した器官であること、(2)巻きひげ化を制御する *CTL* 遺伝子座には巻きひげ特異的に発現する TCP 転写因子 (*CmTCP1*) がコードされていること、(3) *ctl* 変異株では *CmTCP1* 遺伝子に変異が生じていることを明らかにしてきた (図 2)。その後、別のグループによってキュウリの TL 形質についてもマッピングが行われており、*CmTCP1* と同等の転写因子が同定されている。これらの



図 1 メロン野生株(右)と巻きひげのない *ctl* 変異株 (左)

知見は、TCP 転写因子がウリ科植物の巻きひげ形成を制御するマスタースイッチであることを示唆する一方、この TCP 転写因子を介した情報伝達機構は未解明な点が多く、ウリ科植物がどのように巻きひげを創り出すのかという「問い」の答えは十分に得られていない。

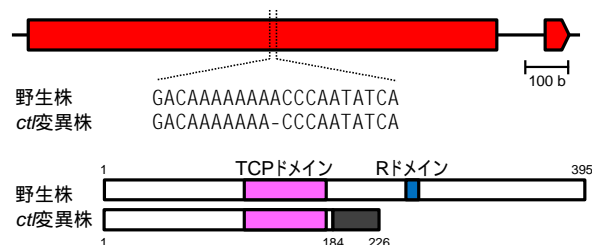


図 2 メロン野生株及び *ctl* 変異株の *CmTCP1* の構造 (上) と予測アミノ酸配列 (下)

### 2. 研究の目的

本研究では、*CmTCP1* と相互作用する因子の解析と、遺伝子組換え植物体の表現型評価を併せて行うことで、ウリ科植物の巻きひげ形成における TCP 転写因子を介した情報伝達機構を明らかにする。

### 3. 研究の方法

*CmTCP1* と相互作用する因子の機能を共免疫沈降実験や一過性発現実験等により明らかにする。また、メロンの腋生器官、特に巻きひげ原基あるいは発達中の巻きひげ組織における遺伝子

発現を *in situ* ハイブリダイゼーション法および RNA-seq 法により評価することで、遺伝子発現の空間的・時間的同一性を調査する。さらに、アグロバクテリウム法により *CmTCP1* を過剰発現するメロンやシロイヌナズナの遺伝子組換え体を作成して人工気象器で栽培し、その表現型から機能推定を試みる。

#### 4. 研究成果

酵母ツーハイブリッド法および共免疫沈降法により、*CmTCP1* と YABBY 転写因子である *CmYAB1* が *in vitro* および *in vivo* で相互作用することが明らかになった。一方、メロンおよびキュウリの巻きひげなし変異株で見つかった C 末端側の配列変異を *CmTCP1* に導入すると、この相互作用が失われたことから、正常な巻きひげ形成における TCP-YABBY 間相互作用の重要性が示唆された。GFP を融合した *CmTCP1* および *CmYAB1* タンパク質はいずれも核に局在したことから、核内での相互作用を介した転写調節機構の存在が示唆された。また、*CmTCP1* 遺伝子は茎頂組織において巻きひげ原基および分化後の巻きひげ全体で発現していたのに対し、*CmYAB1* は分化後の巻きひげおよび葉の背軸側で発現していたことから、両転写因子の相互作用は巻きひげの背軸側で生じると考えられた。さらに、複数系統のメロン野生株の葉と巻きひげにおける遺伝子発現量を RNA-seq 解析により定量したところ、*CmYAB1* はメロンに存在する 7 つの YABBY ホモログ遺伝子の中で、巻きひげ/葉の発現量の比率が最も高かった。分子系統解析において、*CmYAB1* はシロイヌナズナの FIL および YAB3 と同じサブファミリーに分類されたが、FIL と YAB3 の祖先分子から分岐してウリ科内で独自に進化したと予想されたことから、この過程で *CmTCP1* と相互作用する機能を獲得して巻きひげの発達（葉身の変形）に関与するようになったと考えられた。

*CmTCP1* 遺伝子を過剰発現する DNA コンストラクトをシロイヌナズナに導入したところ、期待していた葉身の巻きひげ化は観察されず、*CmTCP1* 単独ではウリ科以外で有効に働かない可能性が示唆された。また、メロンの *ctl* 変異株で *CmTCP1* 遺伝子を過剰発現させる機能相補試験を試みたが、組換えカルスが得られたものの植物体の再生が起らず、その表現型を評価するには至らなかった。一方で、予備的に進めていた *ctl* 変異株と野生株の交雑後代（BC<sub>1</sub> 世代）計 1,455 個体のファインマッピングが完了し、*CmTCP1* のみが *ctl* 変異の原因遺伝子たりえることが明らかとなったことで、*CmTCP1* と *CTL* 遺伝子の同一性を間接的に証明できた。

これらの結果から、TCP 転写因子による巻きひげ形成能はウリ科植物全般で普遍的な機構と推測され、今後、スイカやカボチャといった他のウリ類においても TCP 遺伝子そのもの、あるいは YABBY 遺伝子のような関連因子の改変によって巻きひげの形成をコントロールし、その絡みつきを抑えた省力栽培品種を育成できると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 光澤浩、増田千穂、岸本奈々、亀山知里、大塚彩海、水野真二
2. 発表標題 メロンの巻きひげ形成に関わるTCPおよびYABBY転写因子の相互作用
3. 学会等名 日本植物学会第86回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大塚彩海、増田千穂、亀山知里、園田雅俊、上吉原裕亮、新町文絵、渡辺慶一、光澤浩、水野真二
2. 発表標題 メロンの巻きひげ形成に関わるTCP-YABBY転写因子間の相互作用
3. 学会等名 園芸学会2023年度春期大会
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	上吉原 裕亮  (Kamiyoshihara Yusuke)  (00758394)	日本大学・生物資源科学部・准教授    (32665)	

	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
研究協力者	光澤 浩  (Mitsuzawa Hiroshi)		

6. 研究組織（つづき）

	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
研究協力者	園田 雅俊  (Sonoda Masatoshi)		

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