

平成 26 年 6 月 9 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：2010～2013

課題番号：22247004

研究課題名(和文) 腋芽の成長を制御する分子機構の解明

研究課題名(英文) Analysis of molecular mechanisms controlling shoot branching

研究代表者

経塚 淳子 (Junko, Kyozuka)

東京大学・農学生命科学研究科・准教授

研究者番号：90273838

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 33,400,000円、(間接経費) 10,020,000円

研究成果の概要(和文)：分枝パターンはメリステム(植物の幹細胞)の性質に大きく依存する。メリステムが活性を持ち続ける場合は枝分かれが作られ続ける。一方、メリステムが花としての性質を獲得すると、メリステムは花を作って活性を失う。本研究では、イネの穂をモデルとして枝分かれの研究を行った。その結果、PAP2とTAW1の二つの遺伝子が花メリステムへと性質が変化するタイミングの決定に関わることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)： The number of grains produced per inflorescence is a critical determinant of yield in rice. During inflorescence development, meristems grow as a branch to generate further meristems which each terminates as a grain-producing spikelet. In the dominant gain-of-function mutant *taw1-D*, a delay in spikelet specification causes prolonged branch formation, resulting in increased grain production. We show that the *taw1-D2* allele mediates more than a 40% rise in yield per plant in a commercial rice cultivar. In contrast, reduction of *TAW1* activity accelerates spikelet formation resulting in a decrease in grain number. *TAW1*, encoding a nuclear protein of an unknown function, shows intense expression in panicle branch meristems, which then disappears from incipient spikelet meristems. It appears that *TAW1* regulates the panicle architecture through suppression of spikelet meristem identity. We thus propose *TAW1* as a novel molecular link between grain number and meristem phase change in rice.

研究分野：植物生理

科研費の分科・細目：植物生理

キーワード：分枝 メリステム イネ 穂(花序)

## 1. 研究開始当初の背景

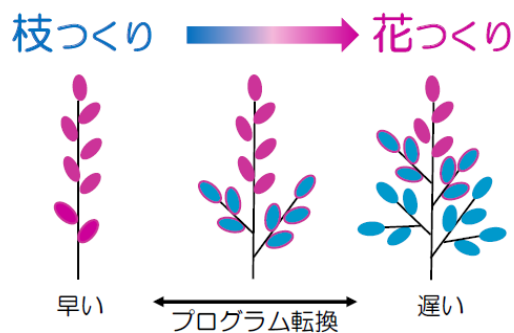
### (1)

植物は、動物とは異なり、生涯にわたり形態形成が続く。これは、胚発生以降も新たな自律幹細胞(メリステム)が作られ続けるからであり、メリステムの形成パターンやその活性を総合した結果として植物の見かけが決まる。

メリステムでは未分化な幹細胞の維持と器官分化のバランスが維持される。このため、メリステムが維持されつつ、器官も形成され続ける。これが植物の形作りの大原則である。唯一の例外は花である。花ではメリステムの未分化細胞が維持されず、花を作ってメリステムの活性が終結する。

したがって、メリステムが花としての性質を獲得することが、形作りに大きく影響する。したがって、作物の生産性という観点からも非常に重要である。そこで、花メリステムへと性質が転換するタイミングがどのように決定されるのかを明らかにすることは、植物の形態形成を理解するという基礎的な興味からも、作物の生産性という応用的観点からも重要である。

イネの穂はメリステムの性質が変わるタイミングを研究するのに適した材料である。イネの穂が形成される際には、穂の中心をなす軸から枝が分かれ、その枝に花がつき、コメが一粒ずつ実る。穂の枝分かれの回数が増えれば、一穂につくコメの数も増加する。枝分かれではメリステムの活性が維持され、花メリステムではメリステムは活性を失う。穂の形成では、途中で「枝づくり」から「花づくり」へと発生プログラムが転換される。この転換が早すぎると枝のつくられ方が中途半端に終わり、遅れると枝分かれが多くなる(図)。



花メリステムとしての性質を決定する遺伝子やその働きは、モデル植物のシロイヌナズナで研究が進んでいた。しかしながら、花メリステムへのプログラムの転換がいつ起こるのかを明らかにする研究は行われていなかった。

## 2. 研究の目的

(1) 植物の枝分かれのパターンを決定する遺伝子のしくみを明らかにする。そのために、まず、枝分かれのパターンの決定に

新規遺伝子を単離し、その働きを分子のレベルで明らかにする。

## 3. 研究の方法

(1) イネの穂を研究対象とする。イネ穂の分枝パターンが異常になった突然変異体を探索する。研究対象として適した変異体を選抜し、その形質を調査する。これにより、変異体の異常の本質を特定で知る可能性がある。

(2) 得られた突然変異体を利用して変異の原因となっている遺伝子を特定する

(3) 特定した遺伝子のはたらき(機能)を解析する。

## 4. 研究成果

(1) イネ科植物では、主茎から分枝が繰り返し形成され、その分枝上に花がつく。枝分かれが何度も繰り返されれば、大きな穂ができ、その結果花の数も増える。逆に、枝分かれの回数が少なければ小さな穂が作られ、その上に作られる花の数も減少する。

この枝分かれの繰り返しに着目し、突然変異候補の集団を育成し、穂の枝分かれが増加あるいは減少した突然変異体を探した。その変異体スクリーニングから枝分かれが増加する変異体を3つ得た。

遺伝学的な解析から、これらのうち2つはどちらも半優性の変異体であり、同じ遺伝子におきた変異であることが分かった。また、残るひとつは劣性の変異体であった。

(2) 優性の変異体では、枝分かれが増え、その結果、穂につく花の数(コメの数)が増加することから、この遺伝子を *TAWAWA1* (*TAW1*) と名づけた。*TAW1* 遺伝子を単離し、*TAW1* 遺伝子はすべての植物ゲノムに存在し、またそれぞれの植物種に10前後の類似遺伝子が存在する。また、*TAW1* 遺伝子から作られるタンパク質は細胞の核に存在し、タンパク質としての機能は分かっていない。

ふたつの変異体では、いずれも、*TAW1* 遺伝子の3'下流の領域にトランスポゾン配列が挿入されており、その結果、遺伝子のはたらきが強まっていることが明らかになった。

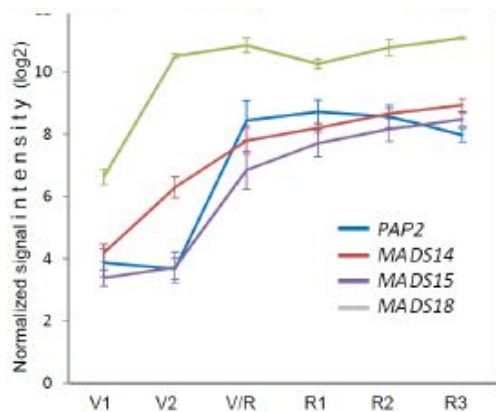
劣性の変異体は *panicle phytmer 2* (*pap2*) と名づけた。*PAP2* は MADS ボックスをもつタンパク質をコードしており、*PAP2* から作られるタンパク質は OsMADS34 として知られていた。

### (3)

*PAP2* 遺伝子の解析

*pap2* 変異体では枝づくりから花づくりへのプログラム転換が早まる。したがって、*PAP2* はイネの花づくり遺伝子であると考えられた。また、穂の形成の各ステージにわたって *PAP2* 遺伝子のはたらき(RNAの発現)を調べたところ、*PAP2* は枝から花へのプログラム転換よりも早い段階でRNAが作られること

がわかった。また、*PAP2*以外にも3つのMADS遺伝子が*PAP2*と同様のパターンでRNAを作っていることがわかった(図)。これらの3つの遺伝子が*PAP2*と強調して何らかのはたらきを持つのではないかと予想し、*PAP2*遺伝子とこれら3つの遺伝子のはたらきを同時に阻害した。その結果、穂の形成そのものがおこらず、植物は葉を作り続けた(図)。この結果から、*PAP2*は花メリステムへのプログラム転換を促進するだけでなく、穂の開始を指令する役割も果たすことが分かった。*pap2*のはたらきが損なわれただけでは穂の発生は正常に開始することから、この機能に関しては、*PAP2*がほかのMADS遺伝子と強調して作用していることがわかった。



図：PAP2 と 3 つの MADS 遺伝子が類似した発現パターンを示す。

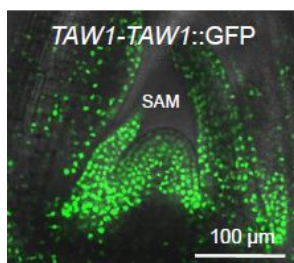


(左、正常なイネ、右、4つの遺伝子のはたらきを阻害したイネ。葉が作られ続ける)

図：PAP2 と 3 つの遺伝子のはたらきを阻害すると穂ができなくなる。(左、正常なイネ、右、4つの遺伝子のはたらきを阻害したイネ。葉が作られ続ける)

#### TAW1 遺伝子の解析

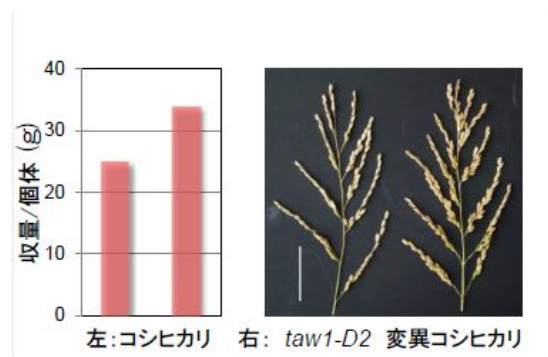
TAW1 遺伝子から作られるタンパク質の機能はわかっていない。まず、蛍光タンパク質の GFP を利用して TAW1 タンパク質が細胞内のどこに局在するのかを調べた。その結果、TAW1 は予想通り、細胞核に局在することが確かめられた。また、TAW1 がほかの遺伝子の転写を活性化するはたらきがあるかを調べたところ、弱い転写活性可能が検出された。



さらにTAW1 タンパク質が細胞内でどのように働くのかを明らかにするために、TAW1 タンパク質と相互作用するタンパク質をイ

ースト・ツーハイブリッド・スクリーニング法で探索した。その結果、複数の候補タンパク質が得られた。それらのうち、確実にTAW1と結合するタンパク質として2種類のタンパク質が特定された。これらの2つのタンパク質を作る遺伝子に関して機能解析を開始した。

ひとつの穂にできる花の数は種子を収穫する多くの作物にとって収量を左右する重要な形質である。*TAW1* 遺伝子のイネの収量に対する影響を調べた。この研究のために、*taw1* 変異体とコシヒカリを交配し(6回の戻し後輩)、*taw1* コシヒカリを作成した。*taw1* コシヒカリでは野生型に比べてひとつの穂にできる種子の数が1.5倍以上に増加した。一株のイネに形成される穂の数は野生型と変わらなかった。しかしながらコメのサイズが小さいために最終的な収量は10%程度の増加にとどまった。また、栽培方法によって、TAW1 遺伝子の効果が影響されることが明らかになった。



#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 13 件)

Yoshida A, Sasao M, Yasuno N, Takagi K, Daimon Y, Chen R, Yamazaki R, Tokunaga H, Kitaguchi Y, Sato Y, Nagamura Y, Usijima T, Kumamaru T, Iida S, Maekawa M, **Kyozuka J**. TAWAWA1, a novel regulator of rice inflorescence architecture, functions through the suppression of meristem phase transition. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 110:767-772 (2013).

Kagiyama M, Hirano Y, Mori T, Kim S-Y, **Kyozuka J**, Seto Y, Yamaguchi S, Hakoshima T.

Structures of D14 and D14L in the strigolactone and karrikin signaling pathways. **Genes to Cell** 18:147-60 (2013).

Yoshida S, Kameoka H, Tempo M, Akiyama K, Umehara M, Yamaguchi S, Hayashi H, **Kyozuka J**, Shirasu K. The D3 F-box protein is a key component in host strigolactone (SL) responses essential for arbuscular mycorrhizal symbiosis. **New Phytologist** 196:1208-1216. (2012).

Luo L, Li W, Miura K, Ashikari M, **Kyozuka J**. Control of Tiller Growth of Rice by *OsSPL14* and Strigolactones, which Work in Two Independent Pathways. **Plant Cell Physiol.** 53: 1793-1801 (2012).

Kobayashi K, Yasuno N, Sato Y, Yoda M, Yamazaki R, Kimizu M, Yoshida H, Nagamura Y, **Kyozuka J**. Inflorescence Meristem Identity in Rice is Specified by Overlapping Functions of Three *AP1/FUL*-like MADS Box Genes and *PAP2*, a *SEP* MADS Box gene. **Plant Cell** 24: 1848-1859 (2012).

Uraguchi S, Kamiya T, Sakamoto T, Kasai K, Sato Y, Nagamura Y, Yoshida A, **Kyozuka J**, Ishikawa S, Fujiwara T. Low-affinity cation transporter (*OsLCT1*) regulates cadmium transport into rice grains. **Proc Natl Acad Sci USA.** 108:20959-20964 (2011)

Tabuchi H, Zhang Y, Hattori S, Omae M, Shimizu-Sato S, Oikawa

T, Qian Q, Nishimura M, Kitano H, Xie H, Fang X, Yoshida H, **Kyozuka J**, Chen F, Sato Y. *LAX PANICLE2* of Rice Encodes a Novel Nuclear Protein and Regulates the Formation of Axillary Meristems. **Plant Cell** 23: 3276-87 (2011)

Fukui K, Ito S, Ueno K, Yamaguchi S, **Kyozuka J**, Asami T. New branching inhibitors and their potential as strigolactone mimics in rice. **Bioorg Med Chem Lett.** 15:4905-4908 (2011)

**Kyozuka J**, Tokunaga H, Yoshida A. Control of grass inflorescence form by the fine-tuning of meristem phase change. **Curr Opin Plant Biol.** 17:110-115 (2014)

Seto Y, Kameoka H, Yamaguchi S, **Kyozuka J**. Recent advances in strigolactone research: chemical and biological aspects. **Plant Cell Physiol.** 53:1843-1853 (2012)

〔学会発表〕(計 10件)

〔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〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 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

(2) 研究分担者 なし

(3) 連携研究者 なし