

研究種目：	特定領域研究
研究期間：	2007～2012
課題番号：	19060004
研究課題名（和文）	葉の発生における領域決定機構
研究課題名（英文）	Molecular mechanisms of determination of gene-expression domain in leaf development
研究代表者	岡田 清孝 (OKADA KIYOTAKA) 基礎生物学研究所 ・ 所長
研究者番号：	50101093

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学、植物生理・分子

キーワード：葉形成・植物器官分化・細胞間シグナル・マイクロ RNA・シロイヌナズナ

### 1. 研究計画の概要

葉や花器官などの側生器官は、茎頂分裂組織の周辺領域の定まった場所に原基が形成され、ついで基部と先端・表側と裏側・中央部と周縁部を区別する三本の直交軸に沿って成長する。原基の位置がどのようにして決定されるのか、葉原基にリクルートされた細胞が軸に沿った分裂と分化を促すシグナリングシステムは何か、という基本的な問題はまだ解明されていない。遺伝学・生化学・細胞生物学に加えて、ゲノム解析とモデル化などの手法を用いて分子の実体を明らかにするとともに、分裂組織において葉原基の形成される位置とタイミングを規定する分子機構を解析する。

具体的には、(1) 葉および花器官の原基の形成と領域化に異常を示す突然変異遺伝子の機能と発現を解析する。(2) 表側領域特異的な遺伝子発現に重要な microRNA165/166 の形成と輸送機構について解析を進める。(3) 芽生えの茎頂分裂組織・花序および花芽分裂組織や、食用に供するカリフラワーの花芽から miRNA や peptide を抽出し、質量分析 (MS) 法を用いて同定してそれらの機能を解析する。

### 2. 研究の進捗状況

向軸側因子の一つである *PHABULOSA (PHB)* の発現領域は miR165/166 によって規定されるが、背軸側表皮細胞だけでのみ *MIR165/166* 遺伝子が発現することで、*PHB* の発現が背軸側特異的に抑制されることが明らかになった。このことは miR165/166 が細胞間を移動

する可能性を示唆する。他方で、背軸側因子の一つである *FILAMENTOUS FLOWER (FIL)* の発現を調節する *ENLARGED FIL EXPRESSION DOMAIN (ENF)* 遺伝子群の解析から、1) ENF1 タンパク質が代謝するコハク酸セミアルデヒドが葉の向背軸領域の境界を決定する活性物質に関連していることが示された。2) *ENF2* 遺伝子が葉緑体ゲノムコードの遺伝子の発現制御に関与しており、葉緑体の正常な機能が葉の領域決定に関与することが示唆された。

また、葉の周縁部特異的な細胞分化に関わる *PRESSED FLOWER* と *WOX1* 遺伝子の分子遺伝学的解析から、両遺伝子の二重突然変異体では葉の周縁部付近において (i) 背軸側表皮細胞が向軸側領域の方へ広がっている、(ii) 向軸側の形質である柵状組織やトライコームが背軸側領域にも観察される、という結果が得られた。このことから、両者が葉の周縁部で発現することで、その付近での向背軸領域の境界形成に関与していることが考えられた。

さらに、維管束組織形成や葉脈パターンに異常を示す突然変異体の解析も行っており、(1) *NO VEIN (NOV)* 遺伝子がオーキシンの分布を制御する新たな分子複合体に関与する、(2) *VASCULAR HYPERPLASIA (VAH)* 遺伝子が維管束細胞の横方向への増加を抑制するのに関与している、ことを明らかにした。

### 3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している  
(理由)

本研究でのこれまでの3年間の研究は当初の研究目標に向かって順調に進展してい

る。これまで不明であった細胞間を移動して葉の向背軸方向にそった細胞分裂や細胞分化に関する物質として、miRNA やコハク酸セミアルデヒドがその候補であることを示す結果が得られた。また、向背軸境界の決定に、葉緑体の正常な機能が関与すること、葉原基の周縁部では PRS と WOX1 が関与する特異的な細胞分化がその付近での境界形成に関与していることが示され、葉原基内部で複数のメカニズムが境界決定に関与していることが明らかになってきた。これまでに得られた成果を踏まえ、今後の研究期間内に、当初の予定以上の成果が得られるよう一層の努力を注ぐ。その一方で、茎頂分裂組織付近で機能する新奇 miRNA や低分子ペプチドの同定・解析についてはまだ十分な展開になっておらず、研究成果を達成するためにさらなる努力を行う。

#### 4. 今後の研究の推進方策

(1) miR165/166 が細胞間を移動して *PHB* の発現領域を規定する可能性が示されているので、今後はその移動の有無を調べるとともに、領域規定の仕組みを明らかにする。

(2) コハク酸セミアルデヒドが向背軸領域の境界を決定する仕組みを明らかにするために、植物内における内生量の分布と細胞間移行の有無を調べ、茎頂分裂組織付近でのその役割を解析する。

(3) 葉緑体の正常な機能と向背軸領域の決定との関連を明らかにするために、*ENF2* 遺伝子による葉緑体ゲノムコード遺伝子群の発現解析を進めるとともに、その両者の間をつなぐ分子実体の解明をさらに進める。

(4) PRS と WOX1 を中心とした分子遺伝学的解析をさらに推進し、葉の向背軸境界決定と周縁部の形成がお互いに関連して葉の組織分化を制御していくメカニズムをより詳細に解析していく。

#### 5. 代表的な研究成果

(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5件)

Tominaga-Wada R., Iwata M., Sugiyama J., Kotake T., Ishida T., Yokoyama R., Nishitani K., Okada K. and Wada T. The GLABRA2 homeodomain protein directly regulates *CESA5* and *XTH17* gene expression in *Arabidopsis* roots. *Plant J.* 査読あり, 60: 564-574 (2009)

Tsugeki R., Ditengou F.A., Sumi Y., Teale W., Palme K. and Okada K. NO VEIN Mediates Auxin-Dependent Specification and Patterning in the *Arabidopsis* Embryo, Shoot, and Root. *Plant Cell* 査読あり, 21:

3133-1351 (2009)

Yagi N., Takeda S., Matsumoto N. and Okada K. VAJ/GFA1/CLO is Involved in the Directional Control of Floral Organ Growth. *Plant Cell Physiol.* 査読あり, 50: 515-527 (2009)

Yoshida Y., Sano R., Wada T., Takabayashi J. and Okada K. Jasmonic acid control of GLABRA3 links inducible defense and trichome patterning in *Arabidopsis*. *Development* 査読あり, 136: 1039-1048 (2009)

Shimizu K.K., Ito T., Ishiguro S., and Okada K. *MAA3 (MAGATAMA3)* Helicase Gene is Required for Female Gametophyte Development and Pollen Tube Guidance in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.* 査読あり, 49: 1478-1483 (2008)

[学会発表] (計33件)

岡田清孝 シロイヌナズナを用いた植物器官発生機構の解析. 第51回日本植物生理学会年会、熊本、2010年3月

豊倉浩一、草野都、渡辺恵郎、為重才覚、立松圭、槻木竜二、松本任孝、斉藤和季、岡田清孝 GABA 代謝経路による向背軸のそった極性形成機構. 第51回日本植物生理学会年会、熊本、2010年3月

立松圭、渡辺恵郎、豊倉浩一、為重才覚、岡田清孝 シロイヌナズナ葉原基での背軸側特異的な miRNA を介した *PHB* の発現抑制機構. 第51回日本植物生理学会年会、熊本、2010年3月

槻木竜二、石橋桂、岡田清孝 維管束形成の初期過程で働く *NOV* と *VAH* の解析. 第51回日本植物生理学会年会、熊本、2010年3月

ほか29件