

令和元年6月17日現在

機関番号：21401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K07259

研究課題名(和文) イネ融合葉突然変異体の解析による新規マスター調節遺伝子ネットワークの解明

研究課題名(英文) Elucidation of the network among novel master control genes by analysis of fused leaf mutants in rice

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) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、規則的に融合葉(abaxially fused leaf (abl))を生じるという、葉の分化パターンが異常な新規イネ突然変異体を複数解析することで未知のマスター調節遺伝子を明らかにした。abl突然変異体の表現型が見られるメカニズムについて仮説を立てることでABL遺伝子の生物学的機能の解明を行い、ABL遺伝子のクローニングや発現解析によって分子レベルでのABL遺伝子の機能解明を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

植物の地上部はすべて茎頂分裂組織という細胞集団に由来する。すなわち、作物の地上部形態は、茎頂分裂組織の発生に関わる遺伝子の機能を制御することでコントロールすることができる。茎頂分裂組織の発生に関わる遺伝子の数は莫大であり、それらはカスケードを形成して機能している。本研究では、カスケードの比較的上位で機能するマスター調節遺伝子の機能解明を行い、将来、収量増加などを目指した作物地上部形態の人為的改変を確実にするための基盤を構築した。

研究成果の概要(英文)：We analyzed several novel abaxially fused leaf mutants which show aberrant leaf initiation pattern and gained insights into new master control genes. We hypothesized the mechanism of the initiation of abaxially fused leaf and elucidate the biological function of ABL genes and molecular functions of ABL genes by cloning and expression analysis.

研究分野：植物発生遺伝学

キーワード：イネ 突然変異体 茎頂分裂組織

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

植物の地上部器官を生み出す茎頂分裂組織 (shoot apical meristem (SAM)) の重要性は、これまで十分に認識され、その発生メカニズムについても、精力的な研究がなされてきた。申請者らは、これまでに、低分子 RNA による発現抑制経路やトレハロース合成に関わる遺伝子がイネ科植物の分裂組織の正常な発生に必須であることを突然変異体を用いた解析で明らかにしてきた。また、モデル植物であるシロイヌナズナにおいては、膨大な分子遺伝学的研究成果として、SAM の発生メカニズムの基本骨格は理解されたと考えられている。

そのような状況下、申請者は、これまでにいかなる植物種においても注目されてきたことのない、背軸面での葉の融合が規則的に起こるイネ突然変異体を少なくとも 2 系統発見した。葉の分化パターンに異常が起こっているという突然変異体の表現型から、*ABL* 遺伝子がイネの SAM 発生時に機能する未知のマスター調節遺伝子であると大いに期待された。また、莫大な数の突然変異体が同定されているシロイヌナズナ研究において本研究の融合葉突然変異体と類似した突然変異体が見いだされてこなかったことから、イネにおける SAM の発生メカニズムにシロイヌナズナのそれとは一線を画するしくみが含まれる可能性が再認識された。

2. 研究の目的

申請者は、規則的に融合葉 (abaxially fused leaf (abl)) を生じるという、葉の分化パターンが異常な新規イネ突然変異体を複数種類同定した。本研究では、融合葉突然変異体を解析することで未知のマスター調節遺伝子を世界に先駆けて開拓することであった。また、それを中核とした茎頂分裂組織の発生制御のための遺伝子ネットワークを解明することも目指した。具体的には、1. *ABL* 遺伝子の生物学的機能の解明、2. 分子レベルでの *ABL* 遺伝子の機能解明、3. イネの茎頂分裂組織発生に関与するマスター調節遺伝子間の相互関係の解明、などに取り組んだ。

3. 研究の方法

本研究では、イネの SAM 発生時の新規マスター調節遺伝子を開拓する。その機能と他のマスター調節遺伝子との関係性を分子レベルで解明して分子遺伝学的モデルを構築することを目指す。そのため、具体的には次の研究を行った。

1. 融合葉突然変異体の形態学的解析や突然変異体における分子マーカーなどの発現解析。
2. *ABL* 遺伝子の単離および同定と mRNA 発現解析の調査。

4. 研究成果

(1) *abl* 突然変異体の形態学的解析と *ABL* 遺伝子の生物学的機能の推定

本報告書では、*abl* 突然変異体の中の *abl1* ~ *abl4* 突然変異体について、その形態学的解析について述べる。*abl1* および *abl4* 突然変異体は主に第 4 葉から第 8 葉までの複数枚の葉で背面融合した葉が観察された (図 1a)。一方、*abl2-D* および *abl3* 突然変異体では、第 4 葉において背面融合した葉が見られた (図 1b)。

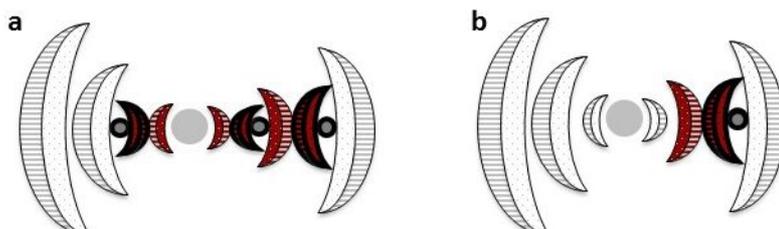


図 1 *abl* 突然変異体の草型の模式図

abl2-D および *abl3* では、背面融合葉(図2)の2面存在する向軸側にももとのシュートおよび分げつ様シュート(図2、矢印)が伸長してきているのが、播種後1か月の苗を観察することで明らかになった。さらに詳細な形態解析から、分げつ様シュートの有無と背面融合葉の葉の幅に相関があることが明らかになった。また、これらの突然変異体には葉序異常を示す個体も見られた(図2)。

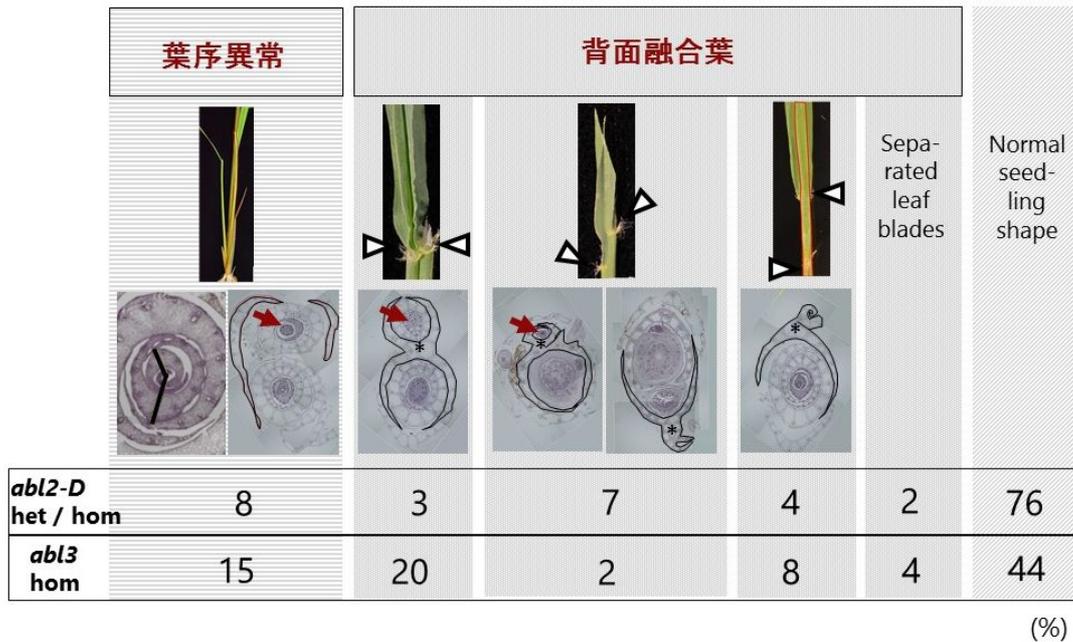


図2 *abl2* および *abl3* 突然変異体の形態の分類

これらの形態観察の結果を総合して、突然変異体の表現型は図3のようなメカニズムで生まれるという仮説を立てた。すなわち、これらの突然変異体の茎頂分裂組織は野生型より大きいあるいはある時点で二つ目の分裂組織を分化し、それが背面融合葉や分げつ様シュートのもとになるというものである。

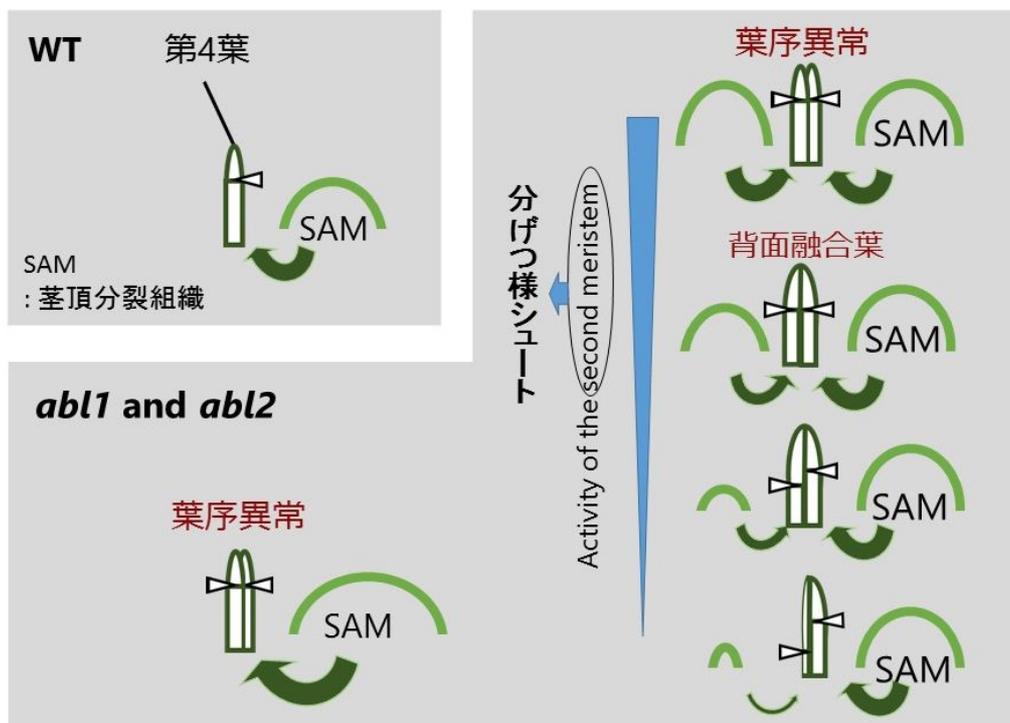


図3 葉序異常や背面融合葉が生じるメカニズム

以上のことから、*ABL2* および *ABL3* 遺伝子は、野生型の茎頂分裂組織の大きさを通常のものに保つあるいは、二つ目の新たな分裂組織を生じさせないよう、生物学的には機能していることが示唆された。

(2) *abl2* 突然変異体におけるマーカー遺伝子 *OSH1* の発現解析

(1) で立てた仮説の二つ目の新たな分裂組織が実際に生じているのか検証するために、イネで未分化細胞の分子マーカーとされている *OSH1* 遺伝子の発現解析を行ったところ、突然変異体では、発生ステージが同じ野生型では観察されなかった位置(図4b、矢印)でのシグナルが観察された。

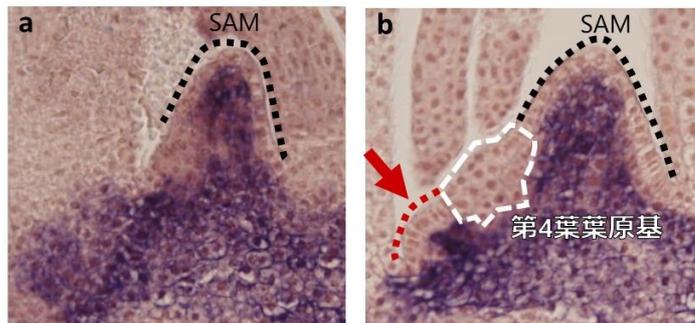


図4 播種後2日目の茎頂分裂組織(SAM)における *OSH1* 遺伝子の発現パターン

この結果から、突然変異体で、新たな分裂組織が生じていることの裏付けが得られた。

(3) *ABL* 遺伝子の同定と発現解析

ABL1 遺伝子は、特定の mRNA の分解に関わる LSM タンパク質、*ABL2* 遺伝子は、サイトカイニンの受容体、*ABL3* 遺伝子は、クラス HD-ZIP タンパク質をそれぞれコードしていることが明らかになった。*ABL1* 遺伝子は、イネの生涯を通じて、広い範囲で発現していることが分かり、*ABL2* 遺伝子は、葉原基分化予定領域や分化後の葉原基先端など、*ABL3* 遺伝子は、茎頂分裂組織及び葉原基の向軸側の領域で発現していることが明らかになった。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計5件)

Satoh T, Tezuka K, Kawamoto T, Matsumoto S, Satoh-Nagasawa N, Ueda K, Sakurai K, Watanabe A, Takahashi H, Akagi H, Identification of QTLs controlling low-temperature germination of the East European rice (*Oryza sativa* L.) variety Maratteli., *Euphytica*, 査読有、207 巻、2016、245-254

DOI: 10.1007/s10681-015-1531-z

Tsuboi K, Shehzad T, Yoneda J, Uruguchi S, Ito Y, Shinsei L, Morita S, Rai H, Nagasawa N, Asari K, Suzuki H, Itoh R, Saito T, Suzuki K, Takano I, Takahashi H, Sakurai K, Watanabe A, Akagi H, Tokunaga T, Itoh M, Hattori H, Fujiwara T, Okuno K, Tsutsumi N, Satoh-Nagasawa N, Genetic analysis of cadmium accumulation in shoots of sorghum landraces, *Crop Science*, 査読有、57 巻、2017、22-31

DOI: 10.2135/cropsci2016.01.0069

Mannai YE, Akabane K, Hiratsu K, Satoh-Nagasawa N, Wabiko H, The NAC transcription factor gene OsY37 (ONAC011) promotes leaf senescence and accelerates heading time in rice, *International Journal of Molecular Sciences*, 査読有、18 巻、2017、1-21

DOI: 10.3390/ijms18102165.

Rai H, Yokoyama S, Satoh-Nagasawa N, Furukawa J, Nomi T, Ito Y, Fujimura S, Takahashi H, Suzuki R, Yousra EM, Goto A, Fuji S, Nakamura S, Shinano T, Nagasawa N, Wabiko H, Hattori H, Cesium Uptake by Rice Roots Largely Depends Upon a Single Gene, HAK1, Which Encodes a Potassium Transporter, *Plant Cell Physiology*, 査読有、58 巻、2017、1468-1493

DOI: 10.1093/pcp/pcx094.

Claeys H, Vi SL, Xu X, Satoh-Nagasawa N, Eveland AL, Goldshmidt A, Feil R, Beggs GA,

Sakai H, Brennan RG, Lunn JE, Jackson D, Control of meristem determinacy by trehalose 6-phosphate phosphatases is uncoupled from enzymatic activity, Nature Plants, 査読有、5 巻、2019、352-357
DOI: 10.1038/s41477-019-0394-z

〔学会発表〕(計8件)

佐藤(永澤)奈美子・永澤信洋・上田健治・長戸康郎・我彦廣悦、KORPOKKUR 遺伝子は正常な細胞の発達と栄養生長期の相転換に必須である、日本植物生理学会、2016年

佐藤(永澤)奈美子・永澤信洋・長戸康郎・El Mannai Yousra・我彦廣悦、KORPOKKUR 遺伝子はイネの細胞分裂及び栄養生長期の相転換に必須である、日本育種学会、2017年

織笠祐実・我彦廣悦・佐藤(永澤)奈美子・田母神繁、サイトカイニン合成遺伝子を導入したイネにおける早生化、日本植物生理学会、2018年

佐藤 理絵・春原 英彦・我彦 廣悦・永澤 信洋・佐藤(永澤) 奈美子、葉の分化パターンに異常があるイネ突然変異体の解析、東北育種研究集会、2018年

手塚拓海・小林俊貴・渡辺友和・佐藤理絵・我彦 廣悦・永澤 信洋・佐藤(永澤) 奈美子、双極葉は茎頂分裂組織周辺のサイトカイニンシグナル異常によって引き起こされる、東北育種研究集会、2018年

中田翔栄・佐藤(永澤) 奈美子・永澤信洋、第1節間に節様構造を形成するイネ突然変異体の解析、東北育種研究集会、2018年

手塚拓海・小林俊貴・渡辺友和・佐藤理絵・我彦 廣悦・永澤 信洋・佐藤(永澤) 奈美子、第4葉に極性異常を示すイネ突然変異体の解析、日本植物生理学会、2019年

手塚拓海・小林俊貴・渡辺友和・佐藤理絵・我彦 廣悦・永澤 信洋・佐藤(永澤) 奈美子、極性異常を生じるイネ突然変異体の表現型と原因遺伝子の解析、日本育種学会、2019年

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：伊藤純一

ローマ字氏名：Jun-ichi Itoh

所属研究機関名：東京大学

部局名：大学院農学生命科学研究科

職名：准教授

研究者番号(8桁)：30345186

研究分担者氏名：永澤信洋

ローマ字氏名：Nobuhiro Nagasawa

所属研究機関名：秋田県立大学

部局名：生物資源科学部

職名：准教授

研究者番号（8桁）：90599268

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。