

令和元年5月22日現在

機関番号：12601

研究種目：新学術領域研究(研究領域提案型)

研究期間：2013～2017

課題番号：25113008

研究課題名(和文)花序と花の構築ロジックの解明

研究課題名(英文)Elucidation of the developmental logics to construct inflorescences and flowers

研究代表者

平野 博之(Hirano, Hiro-Yuki)

東京大学・大学院理学系研究科(理学部)・教授

研究者番号：00192716

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 71,000,000円

研究成果の概要(和文)：イネの花序は、穂軸、ブランチ、小穂、花などから構成される階層性の高い構造であり、これらの各部位は、それぞれ異なるタイプのメリステムから形成される。本研究では、メリステムの機能と密接に関連させつつ、イネの花序や花の発生ロジックを明らかにすることを目的とした。

本研究では、新たな遺伝子を同定し、既知の遺伝子を含めて、花序や花の発生機構を明らかにした。主要な研究成果の例：転写共役因子ASP1は幹細胞の恒常性の維持と花序構築に重要な役割を果たす。TOB1/2/3の3つのYABBY遺伝子は細胞非自律的にブランチと小穂の発生を制御する。WOX遺伝子の1つTAB1は腋芽メリステム形成に必須である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、独特の形態をもつイネの花序や花を構築する遺伝子を単離し、その機能を解析した結果、その発生メカニズムの理解が大きく進展した。また、この遺伝子の機能をシロイヌナズナと比較することにより、各々の種に独自の機能と共通する機能を明らかにした。したがって、本研究は、イネの発生を理解するのみではなく、被子植物の発生を総合的に理解することや遺伝機能の進化などについて大きな学術的な貢献をしたと考えられる。また、イネは主要な作物の1つであり、この発生の機構解明は形態改変を通じたイネの育種や品種改良にも今後発展すると考えられ、応用的にも意義のある研究であった。

研究成果の概要(英文)：Rice inflorescence has a higher-order complex structures, consisting of main rachis, branches, and spikelets, and floral organs differentiate in the spikelet. These inflorescence parts are formed from distinct types of the meristems, such as inflorescence, branch, spikelet and flower meristems. The objective of this research project is to understand developmental logics that regulate the construction of inflorescences and flowers in relation to meristem function.

We found several new genes involved in inflorescence and flower development. Focusing on these new genes in addition to those already known as homologs, we revealed the developmental mechanisms as follows: ASP1 encoding transcriptional corepressor plays a critical role in stem cell homeostasis and inflorescence development; there YABBY genes, TOB1/2/3, regulate non-autonomously spikelet and branch development; TAB1 encoding WOX transcription factor is essential for axillary meristem development.

研究分野：植物発生遺伝学

キーワード：発生・分化 メリステム 花序 花 小穂 ブランチ 遺伝子 イネ (*Oryza sativa*)

1. 研究開始当初の背景

イネは、穂軸、1次・2次ブランチ（枝梗）、花を内包する花序単位である小穂、などから構成されており、複雑な高次の階層性をそなえた花序を作り出す。茎頂分裂組織（メリステム）から転換した花序メリステムは、ブランチメリステム（1次、2次）や小穂、花メリステムを分化し、それぞれブランチや小穂、さらに花を形成する。イネの花序形態は、ブランチの数や長さ、小穂の数などによって決定され、これらは、全てメリステムの機能へと還元できる。したがって、花序構築のメカニズムは、メリステムの転換、維持、有限性などの制御と密接に関わっている。すなわち、イネの花序は階層性が高く、それに基づく花序の各部位の発生は各メリステムの機能や性質が大きく依存している。

これに対し、シロイヌナズナの花序は、花茎に直接花が形成されるという単純な発生過程であり、高い階層性は見られない。したがって、イネは、被子植物一般に見られる高次の階層性をもつ花序構築の発生ロジックを明らかにする上ですぐれたモデル生物ということができる。研究開始当初、イネの花序の形態形成に関しては研究が進みつつあったが、メリステムの機能と関連させた花序構築の発生機構の解明はまだ不十分であった。

2. 研究の目的

本研究は、高次の階層性をもつイネの花序の構築機構と独自の形態をもつ花の分化機構を制御する発生メカニズムを、メリステムの機能と密接に関連させて、分子レベルで明らかにすることを目的としている。この目的を達成するため、花序や花の発生やそのメリステムの機能を制御する新たな遺伝子をいくつか同定し、その機能を明らかにする。

3. 研究の方法

本研究では、(1) 花序や花が異常となった突然変異体から出発し、その原因遺伝子を単離して、その機能を解明するという順遺伝学的なアプローチと、(2) 花やメリステムを制御する既知の遺伝子から出発してその機能をさらに深く詳細に理解するという逆遺伝学的アプローチの、2つの手法により、花の発生と花序構築の理解を深める。

順遺伝学アプローチでは、ポジショナルクローニングにより遺伝子単離を目指したが、次世代シーケンスを併用して、効率的に遺伝子の単離を遂行した。また、逆遺伝学アプローチでは、RNAサイレンシング方による遺伝子ノックダウンに加えて、TILLING方によるノックアウト個体の探索を行った。さらに、本研究が開始したころに開発されたCRISPR-CAS9技術をいち早い導入し、人為的ノックアウト個体の作出も行った。

4. 研究成果

- (1) 花メリステムにおいて幹細胞増殖を負に制御している *FLORAL ORGAN NUMBER2 (FON2)* 遺伝子（シロイヌナズナの *CLV3* オーソログ）の機能喪失変異を昂進する変異体 (1B280) から出発して、シロイヌナズナの *TOPLESS (TPL)* 様の転写コリプレッサーをコードする *ABERRANT SPIKELET AND PANICLE1 (ASPI)* 遺伝子が、花序や花メリステムの維持に重要な役割を果たしていることを明らかにした。1B280 変異体は *fon2* と *asp1* の2重変異体であること、この変異体では花序メリステムが非常に増大しその原因は幹細胞の過剰増殖に起因していること、その結果花序の主軸が二叉に分岐することなどが判明した。トランスクリプトーム解析の結果、負のシグナリング経路である *FON2* と転写コリプレッサーである *ASPI* とは、類似した機能をもつ多くの遺伝子を共通に負に制御していることが明らかとなった。したがって、幹細胞の恒常性の維持には、*FON* シグナリングと *ASPI* コリプレッサーが協調して、多くの遺伝子の発現を適切に抑制することが必須であると考えられる。
- (2) イネの花序では、らせん葉序（枝序）で1次ブランチが形成される。一方、*ri* 変異体（旧名 *pvp1*）では、1次ブランチは部分的に輪生枝序で形成される。この *ri* 変異の原因遺伝子を単離した結果、*BELL1* 型のホメオドメイン転写因子をコードしていることが明らかとなった。遺伝子の機能を解析した結果、*RI* は、花序メリステムにおいて1次ブランチメリステムが分化する位置で発現すること、1次ブランチメリステムの開始パターンを決定すること、主軸の節間伸長を制御することなどが、明らかとなった。また、*RI* のパラログである *RIL1*（旧名 *PVP2*）の変異体を単離し併せて解析した結果、*RIL1* は *RI* と冗長的に機能して花序構築を制御していること、これら2つの遺伝子は茎頂メリステムの確立や維持にも重要な役割を果たしていることなどが判明した。
- (3) 逆遺伝学手法により、*YABBY* 遺伝子ファミリーに属する *TONGARI-BOUSHI1 (TOB1)*、*TOB2*、*TOB3* の機能を解析した結果、これらの遺伝子は冗長的に、ブランチや小穂メリステムの機能を制御

していることが明らかになった。*TOB1* 単独変異体では、主に小穂メリステムの機能が損なわれるが、*tab1* 変異体で *TOB2* と *TOB3* のノックダウンを同時に行うと、ほとんど小穂が形成されないブランチだけの花序が形成される。これは、ブランチメリステムの機能が極度に損なわれた結果、小穂が全く形成されなくなったことによると考えられる。また、これら3つの *TOB* 遺伝子は小穂やブランチのメリステムそれ自体では発現しておらず、小穂器官やブランチの苞葉などで発現していることが示された。したがって、これらの *TOB* 遺伝子は細胞非自律的にメリステムを制御しており、側生器官からのメリステムの活性を制御するシグナリングに関わっていると考えられる。

(4) *TILLARS ABASENTI (TAB1)* は、シロイヌナズナにおいて幹細胞維持の主要促進因子である *WUSCHEL (WUS)* のオーソログである。機能喪失変異体を単離して解析した結果、*TAB1* は腋芽メリステムの形成に必須であること、シロイヌナズナとは異なり *TAB1* は茎頂メリステムでは機能していないことなどが判明した。*TAB1* は腋芽メリステム過程の初期～中期にかけて発現し、未分化細胞を維持するために機能していると考えられる。一方後期になると *TAB1* の発現は消失し、そのかわりパラログの *WOX4* が発現するようになる。したがって、イネでは、2つの *WOX* 遺伝子が入れ替わるように発現して、腋芽メリステム形成を促進していると考えられる。また、*tab1* 変異体では小穂の数が減ることから、花序形成の際の腋芽メリステム形成にも *TAB1* が機能していると考えられる。

(5) 花の発生では、クラスC遺伝子の *OsMADS3*、*OsMADS58*、*DROOPING LEAF (DL)*、*FON2* などの機能を解明した。*OsMADS3* と *OsMADS58* はともに、花メリステムの有限性を制御していること、心皮アイデンティティーの決定には重要な役割を果たしていないこと、また、*DL* は心皮アイデンティティーの決定と花メリステムの有限性を制御していることを明らかにした。また、*OsMADS3* の機能喪失が *fon2* 変異を昂進することから、*OsMADS3* は幹細胞の恒常性の維持にも関わっていることが示唆された。

(6) 小穂の頂端部に形成される芒は、ジャポニカイネの栽培化の過程で、消失あるいは長さが短くなってきた。この芒形成に着目して研究を進めた結果、*YABBY* 遺伝子である *DL* と *ARF* 遺伝子の一つの *OsETT2 (OsETT2)* が芒形成の制御に必須であることが明らかとなった。*DL* の機能が欠損すると本来芒を形成する系統でも芒形成が阻害された。一方、*OsETT2* が芒原基で異所的に発現すると本来芒を形成しない系統で芒が伸張するようになった。空間的な発現パターンの解析結果も含めると、芒原基で *DL* と *OsETT2* が発現することが芒形成に必要であること、ジャポニカでは、栽培化の過程で芒原基における *OsETT2* の発現が消失したことが、芒が形成されない一つの要因であることが明らかとなった。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 19 件)

[査読有]

1. Suzuki, C., Tanaka, W., and Hirano, H.-Y. (2019). *ASP1* encoding the TOPLESS-related transcriptional corepressor regulates meristem maintenance in concert with CLV-like signaling in rice. *Plant Physiol.* (in press). doi: 10.1104/pp.19.00432 [査読有]
2. Sugiyama, S.-H., Yasui, Y., Ohmori, S., Tanaka, W., and Hirano, H.-Y. (2019). Rice flower development revisited: regulation of carpel specification and flower meristem determinacy. *Plant Cell Physiol.* (in press). doi: 10.1093/pcp/pcz020 [査読有]
3. Ikeda, T., Tanaka, W., Toriba, T., Suzuki, C., Maeno, A., Tsuda, K., Shiroishi, T., Kurata, T., Sakamoto, T., Murai, M., Matsusaka, H., Kumamaru, T., and Hirano, H.-Y. (2019). *BELL1*-like homeobox genes regulate inflorescence architecture and meristem maintenance in rice. *Plant J.* 98, 465-478. doi: 10.1111/tbj.14230 [査読有]
4. Yasui, Y., Ohmori, Y., Takebayashi, Y., Sakakibara, H., and Hirano, H.-Y. (2018). *WUSCHEL-RELATED HOMEBOX4* acts as a key regulator in early leaf development in rice. *PLOS Genet.* 14, e1007365. doi: 10.1371/journal.pgen.1007365 [査読有]
5. Matsumoto, H., Yasui, Y., Kumamaru, T., and Hirano, H.-Y. (2018). Characterization of a *half-pipe-like leaf1* mutant that exhibits a curled leaf phenotype. *Genes Genet. Syst.*, 92, 287-291. doi:10.1266/ggs.17-00013 [査読有]
6. Tanaka, W., Toriba, T., and Hirano, H.-Y. (2017). Three *TOB1*-related *YABBY* genes are required to maintain proper function of the spikelet and branch meristems in rice. *New Phytol.* 215, 825-839. doi: 10.1111/nph.14617 [査読有]

7. Yasui, Y., Tanaka, W., Sakamoto, T., Kurata, T., and Hirano, H.-Y. (2017). Genetic enhancer analysis reveals that *FLORAL ORGAN NUMBER2* and *OsMADS3* cooperatively regulate maintenance and determinacy of the flower meristem in rice. *Plant Cell Physiol.* 58, 893-903. doi:10.1093/pcp/pcx038 [査読有]
8. Sugiyama, S.-H., Tanaka, W., and Hirano, H.-Y. (2016). Polar patterning of the spikelet is disrupted in the two opposite lemma mutant in rice. *Genes Genet. Syst.* 91, 193-200. doi: 10.1266/ggs.16-00014 [査読有]
9. Kubo, F.C., Yasui, Y., Kumamaru, T., Sato, Y., and Hirano, H.-Y. (2016). Genetic analysis of mutants responsible for narrow leaf phenotype and reduced vein number. *Genes Genet. Syst.* 91, 235-240. doi: 10.1266/ggs.16-00018 [査読有]
10. Tanaka, W., Ohmori, Y., Ushijima, T., Matsusaka, H., Matsushita, T., Kumamaru, T., Kawano, S., and Hirano, H.-Y. (2015). Axillary meristem formation in rice requires the *WUSCHEL* ortholog *TILLERS ABSENT1*. *Plant Cell* 27, 1173-1184. doi: 10.1105/tpc.15.00074 [査読有]
11. Suzuki, C., Tanaka, W., and Hirano, H.-Y. (2015). Analysis of rice fickle spikelet1 mutant that displays an increase in flower and spikelet organ number with inconstant expressivity. *Genes Genet. Syst.* 90, 181-185. doi:10.1266/ggs.90.181 [査読有]
12. Ikeda, T., Tanaka, W., Mikami, M., Endo, M., and Hirano, H.-Y. (2015). Generation of artificial drooping leaf mutants by CRISPR-Cas9 technology in rice. *Genes Genet. Syst.* 90, 231-235. doi:10.1266/ggs.15-00030 [査読有]
13. Sato, D.-S., Ohmori, Y., Nagashima, H., Toriba, T., and Hirano, H.-Y. (2014). A role for *TRIANGULAR HULL1* in fine-tuning spikelet morphogenesis in rice. *Genes Genet. Syst.* 89, 61-69. doi: 10.1266/ggs.89.61 [査読有]
14. Ohmori, Y., Yasui, Y., and Hirano, H.-Y. (2014). Overexpression analysis suggests that *FON2-LIKE CLE PROTEIN1* is involved in rice leaf development. *Genes Genet. Syst.* 89, 87-91. doi: 10.1266/ggs.89.87 [査読有]
15. Toriba, T., and Hirano, H.-Y. (2014). The *DROOPING LEAF* and *OsETTIN2* genes promote awn development in rice. *Plant J.* 77, 616-626. doi: 10.1111/tpj.12411 [査読有]

[学会発表] (計 51 件)

1. 鈴木 千絵, 田中 若奈, 平野 博之 “イネの幹細胞維持を制御する FON signaling と転写抑制因子 ASP1 の機能解析” 第 60 回日本植物生理学会年会, 名古屋 (2019 年 3 月 13-15 日)
2. 田中 若奈, 平野 博之 “イネの腋芽幹細胞の確立と維持機構” 第60回日本植物生理学会年会, 名古屋 (2019年3月13-15日)
3. 杉山 茂大, 安居 佑季子, 大森 涼葉, 田中 若奈, 平野 博之 “イネにおける心皮の決定メカニズムの解析” 第60回日本植物生理学会年会, 名古屋 (2019年 3月13-15日)
4. 池田 拓之, 田中 若奈, 鳥羽 大陽, 前野 哲輝, 津田 勝利, 城石 俊彦, 倉田 哲也, 坂本 智昭, 村井 正之, 松坂 弘明, 熊丸 敏博, 平野 博之 “BELL1 型ホメオドメイン転写因子をコードする *RI* と *RIL1* 遺伝子は花序構築とメリステムの維持を制御する” 第 60 回日本植物生理学会年会, 名古屋 (2019 年 3 月 13-15 日)
5. 田中 若奈, 平野 博之 “イネの腋芽形成におけるメリステム関連遺伝子の役割” 日本育種学会第 133 回講演会, 博多 (2018 年 3 月 25-26 日)
6. 鈴木 千絵, 田中 若奈, 平野 博之 “イネの *floral organ number2* 亢進変異体を用いたメリステム維持機構の解析” 日本育種学会第133回講演会, 福岡 (2018年3月25日-26日)
7. 田中 若奈, 鳥羽 大陽, 平野 博之 “イネの *TOBI* 様 *YABBY* 遺伝子は全ての生殖成長期のメリステムを制御する” 第58回日本植物生理学会年会, 鹿児島 (2017年3月16-18日)
8. 鈴木 千絵, 佐藤 大輔, 田中 若奈, 平野 博之 “イネ *floral organ number2* 変異を亢進する変異体の解析” 第57回日本植物生理学会年会, 盛岡 (2016年3月18-20日)
9. 廣川 拓也, 佐藤 大輔, 田中 若奈, 黒谷 賢一, 畑中 彩希, 高牟禮 逸朗, 武田 真, 平野 博之 “イネ小穂の発生を制御する遺伝的機構とジャスモン酸作用” 日本育種学会 第129回講演会, 横浜 (2016年3月21-22日)
10. 杉山 茂大, 田中 若奈, 鳥羽 大陽, 坂本 智昭, 倉田 哲也, 平野 博之 “小穂の器官配置に異常が生じる変異体 *two opposite lemma (tol)* の解析” 日本育種学会第130回講演会, 鳥取 (2016年9月24-25日)
11. 田中 若奈, 平野 博之 “イネの段階的な腋芽形成を制御する遺伝子の解析” 日本遺伝学会 第88回大会, 三島 (2016年9月7-9日)
12. 池田 拓之, 田中 若奈, 村井 正之, 坂本 昭, 倉田 哲也, 平野 博之 “輪生様の一次枝梗を生じるイネ変異体の発生遺伝学的解析” 日本育種学会 第128回講演会, 新潟 (2015年9月11-12)

- 日)
13. 田中 若奈, 河野 重行, 平野 博之 “イネの*TABI*遺伝子は分けつと穂の形成を制御する” 第128回日本育種学会講演会, 新潟 (2015年9月11-12日)
 14. 鈴木 千絵, 佐藤 大輔, 田中 若奈, 平野博之 “イネの *fon2* 変異を亢進する変異の同定” 日本育種学会第127回講演会, 町田 (2015年3月21-22日)
 15. 佐藤 大輔, 廣川 拓也, 平野 博之 “小穂に多面的な表現型を示す*capricious spikelets1*変異体の表現型解析” 日本育種学会第127回講演会, 町田 (2015年3月21-22日)
 16. 廣川 拓也, 佐藤 大輔, 鳥羽 大陽, 吉田 明希子, 永島 はるか, 高牟禮 逸朗, 平野 博之 “*gl* 変異を抑圧する変異体の解析と原因遺伝子の単離の試み” 日本育種学会第127回講演会, 町田 (2015年3月21-22日)
 17. 杉山 茂大, 田中 若奈, 鳥羽 大陽, 平野 博之 “小穂発生に異常のあるイネの変異体 *washidukami (wad)* の解析” 日本育種学会第127回講演会, 町田 (2015年3月21-22日)
 18. 田中 若奈, 大森 良弘, 牛島 智一, 松坂 弘明, 松下 智直, 熊丸 敏博, 河野 重行, 平野 博之 “イネの腋芽形成の開始機構の解析” 第56回日本植物生理学会年会, 東京 (2015年3月16-18日)
 19. 池田 拓之, 田中 若奈, 村井 正之, 坂本 智昭, 倉田 哲也, 平野 博之 “輪生様枝序を生じるイネ変異体の発生遺伝学的解析”第56回日本植物生理学会年会, 東京 (2015年3月16-18日)
 20. 平野 博之, 佐藤 大輔 “イネの小穂形態を制御する遺伝子の相互作用” 日本遺伝学会第86回大会, 長浜 (2014年9月17-19日)
 21. 田中 若奈, 大森 良弘, 牛島 智一, 松坂 弘明, 松下 智直, 熊丸 敏博, 河野 重行, 平野 博之 “イネの腋芽形成の初期過程を制御する遺伝子の解析” 第126回日本育種学会講演会, 宮崎 (2014年9月26-27日)
 22. Hiroyuki Hirano “Genetic regulation of flower and inflorescence development in rice” Symposium “New era of developmental biology on plants” 47th Annual Meeting of the Japanese Society of Developmental Biologists (May 27-30, 2014)
 23. 佐藤 大輔, 大森 良弘, 永島 はるか, 平野 博之 “内外穎の形態が異常となったイネ突然変異体の表現型解析と遺伝子同定”日本育種学会第125回講演会, 仙台 (2014年3月21-22日)
 24. 鳥羽 大陽, 平野 博之 “イネの発生を制御する主要遺伝子は芒形成にも必須である” 日本育種学会第125回講演会, 仙台 (2014年3月21-22日)
 25. 田中 若奈, 河野 重行, 平野 博之 “3つの *TOBI* 様 *YABBY* 遺伝子はイネの花と花序の形態を制御する” 日本遺伝学会第 85 回大会, 横浜 (2013年9月19-21日)
 26. 鳥羽 大陽, 平野 博之 “イネの芒形成を制御する遺伝子とその進化的意義” 日本遺伝学会第 85 回大会, 横浜 (2013年9月19-21日)

[図書] (計 5 件)

1. Toriba, T. and Hirano, H.-Y. (2018). Two-color in situ hybridization: a technique for simultaneous detection of each transcript from different loci. In “Plant transcription factor”, N. Yamaguchi, ed. pp. 269-287 (New York: Springer). [査読無]
2. 平野 博之, 阿部 光知 (2018). 「花の分子発生遺伝学」(裳華房: 東京).
3. Tanaka, W. Toriba, T., and Hirano, H.-Y., (2014). Flower development in rice. “The molecular genetics of floral transition and flower development”, F. Fornara, ed. pp. 221-262 (Elsevier: Amsterdam). *Advances in Botanical Research* vol. 72. doi:10.1007/978-1-4614-9408-9 [査読有]
4. Hirano, H.-Y., Tanaka, W., and Toriba, T. (2014). Flower development in grasses. In *Methods in Molecular Biology “Flower Development”* (vol. 1110), F. Wellmer and J.L. Riechmann, eds pp. 57-84 (Springer: New York). doi:10.1016/B978-0-12-417162-6.00008-0 [査読有]

[その他]

ホームページ

<http://www.bs.s.u-tokyo.ac.jp/~hirano/Japanese.html>

報道

「イネの花作る遺伝子特定 - 東大、収量増をめざす」 日経産業新聞: 2017年6月6日

「葉の初期発生を制御する鍵遺伝子を発見」

(プレスリリース : <http://www.s.u-tokyo.ac.jp/ja/press/2018/5856/>)

「イネの分蘖(ぶんげつ)形成を促進する遺伝子を発見」

(プレスリリース : <https://www.s.u-tokyo.ac.jp/ja/press/2015/16.html>)

アウトリーチ

- ・国立科学博物館「卵からはじまる形づくり - 発生生物学への誘い」: 展示協力 (2017)
- ・教育用ビデオ「植物発生ロジック 10大成果 “イネの穂の形づくりのしくみ”」の作製・普及

- ・夢☆あこがれプロジェクト「第7, 8 回理科大好きフェスティバル」(岩沼市教育委員会主催)への参加・協力 (2016, 2017)

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：佐藤 豊
ローマ字氏名：(SATO, Yutaka)
所属研究機関名：名古屋大学
部局名：大学院生命農学研究科
職名：准教授
研究者番号 (8 桁)：40345872

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：田中 若奈
ローマ字氏名：(TANAKA, Wakana)
研究協力者氏名：安居 由紀子
ローマ字氏名：(YASUI, Yukiko)
研究協力者氏名：鳥羽 大陽
ローマ字氏名：(TORIBA, Taiyo)

※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。