

### 3-4 植物発生

#### 塚谷 裕一（助教授）

1) 専門領域：植物の発生・分子遺伝学

2) 研究課題：

- a) 葉の形態形成を司る遺伝子の解明
- b) 葉の形態の環境適応と可塑性
- c) 葉形態の多様性の背景となる遺伝的多様性

3) 研究活動の概略と主な成果：

a) シロイヌナズナの解析から、葉の縦の長さを制御する新たな遺伝子ファミリー *RTFL* (*ROTFOUR-LIKE*) を見いだした (Narita et al., 2004)。*RTFL* は種子植物特異的な、小さなペプチドをコードすると考えられる遺伝子ファミリーで、その高度に保存された *RTFL* ドメインを構成的に発現させることで、葉の長さを特異的に短くする効果を示す。*ROT4::GFP* 融合蛋白を植物の細胞で発現させると、細胞膜に局在することが示された。また葉の長さの制御は、細胞数の増減に寄っていることが判明した。一方、同様に葉の長さを制御する遺伝子として先に同定した *ROT3* 遺伝子については、この遺伝子がコードする酵素が、植物で唯一知られているステロイドホルモンであるブラシノステロイドの活性分子の産生に関わっていることが判明した (Kim et al., 2005)。特にカステステロンの合成に必須と考えられる。その一方、*ROT3* 遺伝子に最も近い配列を持つ *CYP90D1* 遺伝子の方は、ブラシノステロイド合成系のより上流で働くことが判明した。*cyp90d1* の単独の機能欠損は、全く表現型を示さず、*rot3* 変異体は、葉の長さのみ表現型を示す点で、既知のブラシノステロイド合成系の変異体と大きく異なる。*rot3 cyp90d12* 重変異体は、既知のブラシノステロイド合成系の変異体と同じく強い矮性を示すことも見いだされた。また、葉の横幅を制御する *AN* 遺伝子について、アサガオからホモログ *IAN* を単離し、その機能をシロイヌナズナで解析した結果、葉の横幅の制御機能はアサガオの *IAN* でも保存されていることが示された (Cho et al., 2005)。

b) シロイヌナズナの葉の光に対する環境応答を解析した結果、光受容体として赤色光に対し *PHYB* を主に用いていること、また青色光に対しては主に *CRY1* *CRY2* を用いていることが判明した (Kozuka et al., 2005)。さらに、葉身・葉柄における光応答伸長反応を解析した結果、葉柄と葉身とでは光応答反応が大きく異なるという従来知見を確認し、さらに、葉柄の暗所での伸長促進は、胚軸で知られているのとは異なり、核内倍加の変化や細胞分裂を伴わず、細胞伸長に依存することを明らかとした。また光受容に

は、上記光受容体を介する経路だけでなく、光合成産物の sucrose を介した経路もあることが判明した。sucrose は暗所で葉身・葉柄共に伸長を促進することも明らかになった (Kozuka et al., 2005)。phyB シグナル ss="bold">K.-H. Cho, T. Shindo, G.-T. Kim, E. Nitasaka and H. Tsukaya Characterization of a member of the AN subfamily ルがどのように葉身・葉柄に伝わるのかを、分子マーカーを用いて解析した結果、phyB シグナル直下にある AtHB-2 遺伝子の mRNA 発現の時間変化は、葉身・葉柄で差がないことが判明した。これは、AtHB-2 遺伝子よりも下流で葉柄と葉身の成長反応の差が生じることを示唆している。

c) 葉の形態で区別できる 2 種のツリフネソウ属について、ジャワ島中部の Pangorango 山で自然交配の形跡を認め、DNA マーカーによりこれを証明した (Tsukaya, 2004)。またマレーシア・キナバル国立公園において、サトイモ科の 1 種 *Schismatoglottis calyptрата* に見られる構造的斑入りを解析した結果、これまで知られていない新たなタイプの、細胞配列の違いにより生じる斑入りであることが見いだされた (Tsukaya et al., 2004)。さらに、島嶼に於ける矮小性が顕著なネジバナについて、国内および近隣諸国における個体群の分子系統学的解析を行なった結果、南北のクラインを認めた他は、大きな taxon を認めないことが判明し、それに基づき学名の整理を行なった (Tsukaya et al., in press)。これら分子系統学的な解析の基盤整理のため、遠隔地における野外調査で大規模なゲノム DNA 収集を行うための手法を確立し、その実用性を検証した (Tsukaya et al., in press)

#### 4) 学術論文

G.-T., Kim, S. Fujioka, T. Kozuka, F.E. Tax, S. Takatsuto, S. Yoshida and H. Tsukaya "The biosynthesis of active forms of brassinosteroids in *Arabidopsis*." *Plant J.* **41**, 710-721 (2005).

T. Kozuka, G. Horiguchi, G.-T. Kim, M. Ohgishi, T. Sakai and H. Tsukaya "The Different Growth responses of the *Arabidopsis thaliana* leaf blade and the petiole during shade avoidance are regulated by photoreceptors and sugar". *Plant Cell Physiol.* **46**, 213-223 (2005).

K.-H. Cho, T. Shindo, G.-T. Kim, E. Nitasaka and H. Tsukaya Characterization of a member of the AN subfamily, IAN, from *Ipomoea nil*. *Plant Cell Physiol.* **46**:, 250-255 (2005).

J. Yokoyama, T. Fukuda and H. Tsukaya "Molecular identification of the mycorrhizal fungi of the epiparasitic plant *Monotropastrum humile* var. *glaberrimum* (Ericaceae)". *J. Plant Res.* (in press) (2005).

H. Tsukaya, Y. Iokawa, M. Kondo and H. Ohba "Large-scale general collection of

DNA of wild plants in Mustang, Nepal". *J. Plant Res.* (in press) (2005).

**H. Tsukaya** "Molecular variation of *Spiranthes sinensis* (Orchidaceae) in Japan, with special reference to systematic treatment of seasonally differentiated groups and a dwarf form, f. *gracilis*, from Yakushima Island". *J. Plant Res.* (in press) (2005).

**N. N. Narita, S. Moore, G. Horiguchi, M. Kubo, T. Demura, H. Fukuda, J. Goodrich and H. Tsukaya** "Over-expression of a novel small peptide ROTUNDIFOLIA4 decreases of cell proliferation and alters leaf shape in *Arabidopsis*". *Plant J.* **38**, 699-713 (2004).

**Tsukaya, H.** "Gene flow between *Impatiens radicans* and *I. javensis* (Balsaminaceae) in Gunung Pangrango, central Java, Indonesia". *Amer. J. Bot.* **91**, 2119-2123 (2004).

**H. Tsukaya, H. Okada and M. Mohamed** "A novel feature of structural variegation in leaves of tropical plant, *Schismatoglottis calyptata*". *J. Plant Res.* **117**, 477-480 (2004).

#### 5) 著書、総説

**H. Tsukaya** "Leaf shape: genetic controls and environmental factors". *Int. J. Dev. Biol.* (in press).

**G.-T. Kim, S. Yano, T. Kozuka and H. Tsukaya** " Photomorphogenesis of leaves : Shade-avoidance syndrome and differentiation of sun/shade leaves". *Photochem. Photobiol. Sci.* (in press)

**堀口吾朗、塚谷裕一**シロイヌナズナの栽培法. 『モデル植物の実験プロトコール』秀順社 (印刷中)

**塚谷裕一、堀口吾朗** 葉の形態形成. 蛋白質核酸酵素 (印刷中)

#### 6) 国際会議発表リスト

**G. Horiguchi, G.-T. Kim, and H. Tsukaya** 15th International Conference on Arabidopsis Research (Berlin, Germany) (2004. 7. 11-14) (three more presentations)

**H. Tsukaya and G. Horiguchi** : Length and width: Genetic regulations of leaf shape in *Arabidopsis thaliana*. (International Symposium "Plant axis formation and signal transduction") Univ. Tokyo, Tokyo 2005.3.2-3

#### 7) 招待講演

**Hirokazu Tsukaya** Leaf shape and size an enigma of ?compensatory system(s)" SFB International Symposium "Pattern formation and cell type specification"

(Universitat zu Koln, Germany) 2004. 9. 23-25

塚谷裕一 日本動物学会・日本植物学会・日本生態学会 中国・四国支部 徳島大会（徳島大 2004. 5. 23-24）

堀口吾朗、塚谷裕一「シロイヌナズナにおける葉の形とサイズの遺伝制御機構」日本遺伝学会（大阪大学 吹田キャンパス）2004. 9. 29

8) 学会および社会的活動

日本植物学会・評議員（中部地区）

日本植物生理学会・評議員（中部地区）

日本植物生理学会 Plant & Cell Physiology 誌 Editorial Board

日本学術会議・第19期植物科学研究連絡委員（幹事）

日本植物学会 Journal of Plant Research 誌 Editor

9) 他大学での非常勤講師、客員教授

京都大学・大学院・理学研究科・客員助教授

大阪市立大学・大学院・理学研究科・非常勤講師

総合研究大学院大学・先導科学研究科・兼任助教授

総合研究大学院大学・生命科学研究所・兼任助教授

東京大学・総合研究博物館 協力研究員