今日の話題

葉の形を決めるマイクロRNA ネットワーク マイクロRNAとその標的遺伝子による多層的な形態形成

マイクロRNA (miRNA) と呼ばれる一群の短鎖RNAは、相補的配列をもつmRNAを認識し、切断あるいは翻訳阻害することにより、標的遺伝子の機能を抑制する⁽¹⁾。このような遺伝子の働きを調節する機能性RNAとして、miRNAは植物を含む真核生物に広く存在する。植物では、miRNAは胚から栄養成長、生殖成長を経て老化に至る発生過程や、環境変動への応答を広く制御する⁽¹⁻⁴⁾。葉が二酸化炭素の固定を担う主たる器官であることや、その形態が人目に付きやすく園芸的な価値が高いことなどから、葉の形成におけるmiRNAの役割について、盛んに研究されてきた⁽²⁻⁴⁾。特にシロイヌナズナでは、個々のmiRNAの役割とともに、各々のmiRNAが密接に関連する多層的制御も報告されている。

葉は、茎頂の幹細胞集団メリステムから生じる(図1)。葉原基内では、向背軸(表と裏)など葉の形成に必要な位置情報が確立される。葉の裏側(背軸領域)で発現するmiR165/166は、裏側でHD-ZIP IIIタイプ転写因子遺伝子の発現を抑制することにより、その発現を表側(向軸領域)に限定する^(2,4)。また、葉の裏側におけるmiR165/166の発現はARF3(AUXIN RESPONSE FACTOR3)転写因子により活性化されるが、ARF3遺伝子は間接的にmiR390の抑制を受ける^(2,4,5)。表側で発現するnoncoding RNAのTAS3(trans-acting RNA3)をmiR390が切断し、TAS3由来短鎖RNAであるtasiR-ARFの生成を誘導する。表側でtasiR-ARFがARF3遺伝子を抑制した結果として、裏側のみでARF3遺伝子が

活性化される⁽⁶⁾。このように、miR165/166とmiR390が密接に作用して向背軸が確立される。

茎頂では、葉原基をメリステムから区画分けする領域を境界領域と呼び、形態的には「くびれ」として認識される(図1)。境界領域はCUC(CUP-SHAPED COTYLEDON)遺伝子ファミリーにより形成されるが、CUC1とCUC2遺伝子はmiR164による抑制を受ける⁽²⁻⁴⁾。葉原基で機能するmiR165/166, miR390, miR164による制御が正常に機能しない変異体や形質転換体では、葉原基とメリステムの形成に重篤な異常が誘導されることから、これらのmiRNAの重要性は明白である。

葉原基から発生が進行し、葉の形態を形成する段階でも、miR164は「くびれ」形態の制御因子として機能する⁽²⁻⁴⁾。葉の縁の鋸歯(ギザギザ形態)の「くびれ」領域では、CUC2遺伝子が発現し、「くびれ」形態を形成する。miR164はCUC2遺伝子を抑制し、CUC2遺伝子による鋸歯サイズの決定制御を精密に調節する。

葉の縁形態形成では、miR319とその標的遺伝子TCP(TEOSINTE BRANCHED1, CYCLOIDEA, PROLIFERATION ANTIGEN BINDING FACTOR)ファミリーも重要である⁽²⁻⁴⁾(図1)。TCP遺伝子は植物特異的転写因子をコードし、サブグループの中の5遺伝子はmiR319の標的となる⁽⁶⁾。野生型では葉の縁に鋸歯が認められることに対して、miR319の変異体では5個のTCP遺伝子の発現が上昇し、平滑な縁形態を形成する⁽⁷⁾(図2A上)。平滑な形態は、TCP3やTCP4遺伝子を過剰発現する形質転換シロイヌナズナでも認められ

図1 ■マイクロRNAと標的遺伝子による葉の形成基盤の概略図

miRNAとその標的遺伝子を赤で囲んでいる。T字はmiRNAによる標的遺伝子の抑制、矢印は促進の制御を示す。三角印はmiR390がTAS3の分解を誘導することを示し、TAS3の分解から生じたtasiR-ARFがARF遺伝子を抑制する。

る。逆に、TCP遺伝子サブグループの多重変異体の葉は、複雑な縁形態と激しい湾曲を示す。この形態変化はmiR319過剰発現型形質転換シロイヌナズナの葉と同様である⁽⁷⁾ (図2A下)。

miR319遺伝子とTCP遺伝子それぞれの遺伝子ファミリーはゲノムに重複して存在するために、単一遺伝子の変異体は異常を示さない、あるいは微細な形態変化のみしか示さない。ところが、miR319とTCP遺伝子のそれぞれについて、破壊した遺伝子数が段階的に異なる多重変異体シリーズでは、幅広い範囲で葉の形態にバリエーションを認め、段階的に葉の平滑さ(あるいは複雑さ)を示すシロイヌナズナが得られている⁽⁷⁾ (図2B)。つまり、階層性と重複性を備えたmiR319-TCP遺伝子ペアが柔軟かつ頑健な葉の形成制御を可能とすることを示唆している。

TCP転写因子の制御下には、miR164の活性化などを介して、CUC遺伝子の発現を負に制御する情報伝達経路が働く⁽⁸⁾ (図1)。つまり、miR319-TCP遺伝子ペアとmiR164-CUC2遺伝子ペアは多層的に機能する⁽²⁻⁴⁾。TCP遺伝子とCUC遺伝子のファミリー間のさまざまな組み合わせの二重変異体では、鋸歯や茎頂の「くびれ」形態の異常が認められ、多層的な制御経路に関する遺伝学的な証拠も得られている⁽⁷⁾。

最終的な葉のサイズは、miR396とGRF (GROWTH-REGULATING FACTOR) 転写因子遺伝子による制御を受ける⁽²⁻⁴⁾ (図1)。miR396が過剰発現するシロイヌナズナでは、葉のサイズが小さくなり、逆に塩基置換によりmiR396の制御を受けない改変型GRF3を導入したシロイヌナズナでは、葉のサイズが大きくなる。特に、miR396の発現をTCP転写因子が活性化することから、葉のサイズの制御にも階層性が認められる⁽²⁻⁴⁾。

発生の最終的な段階で、葉は栄養分を貯蔵組織や新たな

図2 ■miR319とTCP遺伝子ペアによるシロイヌナズナの葉の形成制御

A. mir319二重変異体(上)とtcp六重変異体(下)における葉の縁の形態変化 B. miR319とTCP遺伝子の発現量を操作することにより現れた葉の表現型 左側にTCP遺伝子の発現が最も高い形質転換シロイヌナズナの葉を置き、右側に最も多数のTCP遺伝子を破壊した六重変異体を置いている⁽⁷⁾。各遺伝子型のうえに、TCP活性を右肩下がりの三角形で、模式的に表記している。スケールバーは1cmを示す。

に増殖する組織に転流しつつ、老化する。発生学的な加齢と外的刺激に対する応答との結節点として、miR164-*ORESARA1*とmiR319-*TCP*遺伝子の制御ペアではmiRNAが葉の老化を抑制し、それぞれエチレンとジャスモン酸を介して機能する⁽²⁾。また、miR396は老化を促進する一方で、その標的の*GRF3*は抑制的に機能し、環境変化に応じて葉の老化を柔軟に誘導する⁽²⁾。さらに加齢に応じた制御を別の観点から見ると、シロイヌナズナは幼若期に単純な形態の葉を形成するが、成長に伴って徐々に複雑化した葉を形成する。このような成長時期に依存した形態変化は、miR156が*SQUAMOSA PROMOTER BINDING PROTEIN-LIKE*遺伝子の発現量を介して、新たに生じる葉の形態の複雑さを決めている^(2, 3)。

上記のmiRNAに加えて、オーキシンなどの植物ホルモンの情報伝達経路で働くmiRNAが、葉の形成に複合的に関与する⁽²⁾。本稿で述べてきたように、miRNA・標的遺伝子ペアが多数同定され、複数の制御ペアが相互作用し、多層的な制御系を構築することが明らかにされつつある。今後の研究では、miRNAとその標的遺伝子が、個々の細胞をどのように制御して葉の全体を形成するのか、葉の形成の全貌の解明が待たれる。

- 1) M. W. Jones-Rhoades, D. P. Bartel & B. Bartel: *Ann. Rev. Plant Sci.*, **57**, 19 (2006).
- 2) J. P. Fouracre & R. S. Poethig: *Curr. Opin. Plant Biol.*, **29**, 64 (2016).

- 3) R. E. Rodriguez, C. Schommer & J. F. Palatnik: *Curr. Opin. Plant Biol.*, **34**, 68 (2016).
- 4) M. D' Ario, S. Griffiths-Jones & M. Kim: *Trends Plant Sci.*, **22**, 1056 (2017).
- 5) D. S. Skopelitis, A. H. Benkovics, A. Y. Husbands & M. C. P. Timmermans: *Dev. Cell*, **43**, 265 (2017).
- 6) J. F. Palatnik, H. Wollmann, C. Schommer, R. Schwab, J. Boisbouvier, R. Rodriguez, N. Warthmann, E. Allen, T. Dezulian, D. Huson *et al.*: *Dev. Cell*, **13**, 115 (2007).
- 7) T. Koyama, F. Sato & M. Ohme-Takagi: *Plant Physiol.*, **175**, 874 (2017).
- 8) T. Koyama, N. Mitsuda, M. Seki, K. Shinozaki & M. Ohme-Takagi: *Plant Cell*, **22**, 3564 (2010).

(小山知嗣, 公益財団法人サントリー生命科学財団)

プロフィール

小山 知嗣 (Tomotsugu KOYAMA)

＜略歴＞2000年日本学術振興会特別研究員／2001年京都大学大学院農学研究科修了、博士(農学)／2002年産業技術総合研究所ポストク／同年科学技術振興機構研究員／2006年産業技術総合研究所研究員／2009年京都大学大学院生命科学研究所科特命助教／2013年公益財団法人サントリー生命科学財団研究員、現在に至る＜研究テーマと抱負＞植物の表現型が現れる仕組みの解明＜趣味＞軽いジョギング

Copyright © 2018 公益社団法人日本農芸化学会
DOI: 10.1271/kagakutoseibutsu.56.774