

葉の凹凸形態形成の制御機構

小山知嗣

公益財団法人サントリー生命科学財団・生物有機科学研究所
〒619-0284 京都府相楽郡精華町精華台 8-1-1

Tomotsugu Koyama

Bioorganic Research Institute, Suntory Foundation for Life Sciences
Seikadai 8-1-1, Seikacho, Soraku-gun, Kyoto 619-0284, Japan

1. はじめに

植物の葉はしばしば凹凸形態を有し、そのサイズや位置、数などの違いにより多様な形態を示す。図 1 は、滑らかな縁形態を有する単葉と複雑な凹凸形態を有する複葉の例を示している。単葉では、しばしば縁に小さな凹凸形態である鋸歯を形成する (図 1 A)。複葉では、小さな葉のような構造 (小葉) が集まって一つの葉となる複雑な凹凸形態を有する (図 1 B)。同種同系統の同じ成長ステージであれば、各個体は類似した葉を形成するので、その形態は正確に制御されているはずである。ところが、同一の個体が幼苗期と成熟期で凹凸形態の異なる葉を形成する例も多い (図 1 C, Poethig 1997)。また、環境変化に応じて葉の凹凸形態はしばしば大きく変換される場合もある (Nakayama et al. 2014)。外来生物の侵入により、葉の凹凸形態が誘導されることも知られている (Sugio et al. 2011)。さらに、健全な生育条件下でも偶発的に葉の凹凸形態に変化が生じてしまい、あたかも出来損ないのような葉を形成することもある (図 1 D)。このような例から、葉の形態形成は正確に制御されるとともに、多様な形態を発現させる柔軟性も兼ね備えたものと言える。

本稿では、まず、葉の発生の概観とその凹凸形態の形成における分子レベルでの枠組みについて紹介する。次に、葉の凹凸形態形成の制御に重要な役割を果たす TCP 転写因子の機能を起点として、単葉や複葉でどのような制御が行われているのかを述べる。本稿を通じて、葉の凹凸形態形成における頑健かつ柔軟な制御系の一端を紹介したい。

2. 葉の形態形成の概観

葉の形態に関わらず、全ての葉は幹細胞を含む細胞集団 (シュートメリステム) から生じる (図 1 E)。シュートメリステムから葉原基を形成する過程で、シュートメリステムを維持する遺伝子の発現が抑制されるとともに、新たに確立された軸情報に従って細胞分裂と伸長の方向が制御される (Nakata & Okada 2013, Tameshige et al. 2013, Bar & Ori 2014, Tsukaya 2014)。葉原基内では発生に伴って徐々に細胞分裂が停止するとともに細胞伸長が開始されるが、周縁部では分裂活性が長期間にわたり維持され、凹凸形態を形成する能力を持つ領域となる (Hagemann & Gleissberg 1996, Donnelly et al. 1999, Andriankaja et al. 2012)。シロイヌナズナの鋸歯の形成において、周縁部特異的な細胞分裂と伸長が観察され、凹凸形態形成の過程が

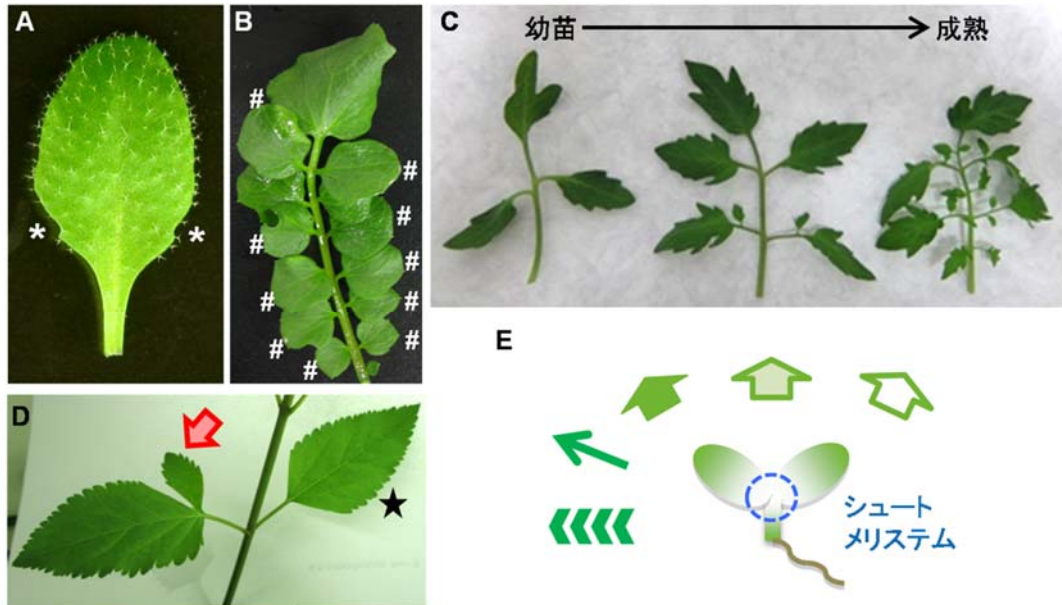


図1. 様々な凹凸形態を有する葉

A 単葉の例として、アブラナ科シロイヌナズナの葉を示す。アスタリスクは鋸歯を表す。

B 複葉の例として、アブラナ科タネツケバナ属植物の葉を示す。シャープは小葉を示す。

C トマトは複葉を形成するが、幼苗期に形成された葉は比較的単純な形態を示し、成熟期に形成された葉は多くの小葉を有する複雑な形態を示す。

D アイノコレンギョウは通常星印のような単葉を形成するが、赤矢印のように偶然に小葉様の形態を形成することもある。

E どのような形態をとるかに関わらず、全ての葉はシュートメリステムから生じる。芽生えの模式図で、青の点線部にシュートメリステムがある。シュートメリステムから生じた葉原基が拡大して葉になる発生過程が多様であることを、異なる矢印で表している。

追跡されている (Kawamura et al. 2010)。また、伸長中の葉の周縁部の一部分に限って人為的に細胞分裂を促進させた場合、形成された葉には大きな凹凸形態が生じる (Wyrzykowska et al. 2002)。

ところが、葉全体で細胞分裂を促進しても葉の形態は変わらない (Cockcroft et al. 2000)。葉に凹凸形態を形成するためには、単なる細胞分裂の制御ではなく、分裂可能な領域が周縁部の局所に偏在することが重要と指摘されている (Wyrzykowska et al. 2002)。このような偏在を生じるための分子機構を理解するためには、シロイヌナズナなどで葉の凹凸形態に異常を示す変異体から得られる知見は有効である。これら変異体の原因遺伝子の中には、ゲノムDNA代謝と構造制御 (Takahashi et al. 2002, Engelhorn et al. 2012), RNA代謝 (Allen et al. 2005, Nelissen et al. 2005, Hunter et al. 2007, Laubinger et al. 2008, Gregory et al. 2008, Zhan et al. 2012, Kougioumoutzi et al. 2013), 翻訳と翻訳後修飾 (Byrne 2009, Moschopoulos et al. 2012, Horiguchi et al. 2012) の過程で機能するものであった。これらの制御の全容解明には至っていないが、後述するオーキシン応答の制御遺伝子や転写因子など凹凸形態の制御因子を調節している可能性が高い (Ori et al. 2012, Fahlgrén et al. 2006, Szakonyi & Byrne 2011, Rosado et al. 2012)。

3. 葉の凹凸形態形成におけるオーキシンと *CUC* 遺伝子の役割

葉の凹凸形態形成を理解するうえで、オーキシンの生合成と輸送機構、情報の受容と伝達に異常を示すシロイヌナズナ変異体は重要な材料となっている。オーキシン情報伝達が活性

化されている部位は、オーキシン応答性遺伝子のプロモーターから同定された DR5 エLEMENT のレポーターで可視化することができる (Ulmasov et al. 1997)。DR5 エLEMENT を導入した形質転換体の解析から、オーキシン応答が鋸歯の頂端部で活性化されることが明らかである (図2)。さらに、オーキシン局在に必要な輸送タンパク質遺伝子の変異体とオーキシン応答を制御する転写因子遺伝子の変異体では鋸歯が形成されないため、凹凸頂端部におけるオーキシン応答が鋸歯の形成に必須である (Hay et al. 2006, Koenig et al. 2009, Kawamura et al. 2010)。

鋸歯の基部では、NAC ドメイン転写因子をコードする *CUP-SHAPED COTYLEDON (CUC)* 遺伝子ファミリーが特異的に発現し、鋸歯の基部に「くびれ」を形成する (図2)。シロイヌナズナでは *CUC* 遺伝子は3遺伝子からなるファミリーを形成し、葉の鋸歯形成では *CUC2* と *CUC3* が大きな役割を担う (Nikovic et al. 2006, Hasson et al. 2011)。 *CUC2* mRNA は microRNA164 (miR164) により分解され、転写後の負の制御を受ける。 *CUC2* と miR164 とのバランスは鋸歯のサイズの制御に重要で、miR164 の制御を受けない塩基置換を導入した変異 *CUC2* 遺伝子過剰発現体や *mir164a* 変異体では大きくくびれた鋸歯を形成し、逆に過剰な *MIR164A* 遺伝子の発現や *cuc2* 変異体は鋸歯の形成が阻害される。また、 *CUC3* は miR164 の制御は受けないが、 *CUC2* と機能重複して鋸歯の形成を促進する。

興味深いことに、鋸歯の頂端部と基部でそれぞれ活性化されているオーキシンと *CUC* 遺伝子は相互作用を示す (図2, Bilsborough et al. 2011)。オーキシン投与は *CUC2* 遺伝子の発現を抑制するが、逆にオーキシン応答に異常を示す変異体では *CUC2* 遺伝子の発現領域が拡大し、その発現量も増加する。一方、 *cuc2* 変異体ではオーキシンの極性輸送が阻害されて鋸歯の形成が阻害されるが、 *mir164a* 変異体で認められる鋸歯の拡大はオーキシンの極性輸送を阻害すると抑圧される (Kawamura et al. 2010, Bilsborough et al. 2011)。このようなフィードバックループが維持されて凹凸形態が強調された結果、鋸歯が形成される。これらの知見に加えて、葉の凹凸形態に異常を示す多くのシロイヌナズナ変異体で、オーキシン応答や *CUC* 遺伝子発現パターンに異常が認められる (Bar & Ori 2014)。

上記のシロイヌナズナの鋸歯の形成機構は、トマトやミチタネツケバナなどの複葉における凹凸形態の形成にも認められる。これらの複葉では小葉原基が葉原基内に形成されるが、小葉原基の先端部においてオーキシン活性が活性化される。しかし、オーキシン極性輸送が阻害された変異体や薬剤処理により、小葉や鋸歯の形成は阻害される (Hay & Tsiantis 2006, Koenig et al. 2009)。一方、トマト *CUC2* ホモログ *GOBLET (GOB)* 遺伝子は小葉原基の基部で発現し、小葉の形成に必要なものである。 *GOB* が miR164 に制御されることと、オーキシンと *GOB*

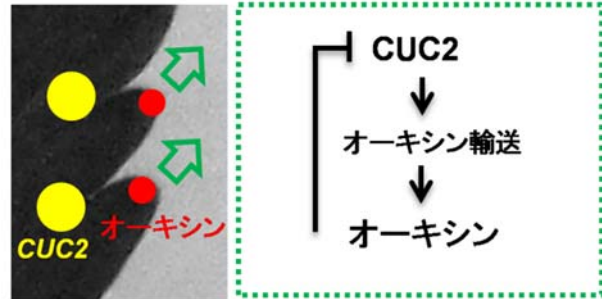


図2. 鋸歯の形成モデル

左は葉の周縁部の模式図で、鋸歯の頂端部の赤で示した領域にオーキシンが、基部の黄色で示した領域に *CUC2* 遺伝子が発現する。

右の模式図では、 *CUC2* はオーキシン極性輸送を促進し、頂端部にオーキシンを蓄積する。オーキシンは *CUC2* 遺伝子を抑制するので、頂端部で *CUC2* 遺伝子の発現が阻害される。

がフィードバックを形成することも明らかである (Blein et al. 2008, Berger et al. 2009, Ben-Gera et al. 2012)。さらに、葉の凹凸形態に異常を示すトマト変異体ではオーキシン応答あるいは *CUC* 遺伝子の発現パターンの異常が報告されている (David-Schwartz et al. 2009, Naz et al. 2013)。このように、凹凸形態の頂端部でオーキシン応答が活性化され、その基部で *CUC* 遺伝子が発現する制御機構が、単葉でも複葉でも共通に認められる。

それでは、オーキシン応答や *CUC* 遺伝子の発現を適切な領域で活性化する機構とはどのようなものだろうか？シロイヌナズナとトマトの葉において、凹凸形態を大きく変化させる *KNOX* 転写因子や *TCP* 転写因子は重要な制御因子である。*KNOX* 遺伝子はオーキシン応答や *CUC* 遺伝子群の発現誘導を伴って、凹凸形態の形成を促進することなどが明らかである (Hay et al. 2006 Spinelli et al. 2011)。本稿では、*KNOX* 転写因子についての総説を紹介するに留め (Hay & Tsiantis 2010, 木村 2013)、以降は *TCP* 転写因子の機能について焦点を絞る。

4. *TCP* 転写因子による凹凸形態形成の制御

葉の凹凸形態形成において、*TCP* 転写因子ファミリーは重要である。*TCP* は植物特異的転写因子で、シロイヌナズナゲノムでは 24 遺伝子にコードされている。それぞれの *TCP* は保存領域のアミノ酸配列相同性により、クラス I と *CINCINNATA* (*CIN*)-like, *CYC/TB* のサブグループに分類されている (図 3, Martin-Trillo & Cubas 2010)。8 遺伝子からなる *CIN*-like *TCP* 遺伝子の中の 5 遺伝子は *miR319* による負の制御を受ける (Palatnik et al. 2003)。キンギョソウ *cin* 変異体の解析から、*CIN* は葉における細胞分裂の抑制因子として分裂の停止領域を規定することにより、葉の滑らかな平面を形成すると提案されたが (Nath et al. 2003)、シロイヌナズナにおける機能は不明であった。

筆者らは、転写因子をドミナントネガティブに阻害する *SRDX* 配列を利用した *CRES-T* 法 (Hiratsu et al. 2003, Koyama et al. 2012)、ならびに多重変異体を用いた解析から、*CIN*-like *TCP* 転写因子が葉の形態の複雑さを制御することを明らかにした (図 4, Koyama et al. 2007, 2010)。*CIN*-like *TCP* 遺伝子破壊株では一遺伝子破壊では表現型異常は認められないが、多重変異体では抑制された *TCP* 遺伝子の数に応じて葉が縮れた。これらの形態異常は *miR319* を過剰に蓄積するシロイヌナズナ *jaw-d* 変異体における葉の波打ち形態と似た、あるいは強調された形態であった (Palatnik et al. 2003)。一方、*miR319* の標的配列に変異を導入し *TCP3* を過剰に蓄積する *mTCP3* 遺伝子発現体では、鋸歯の形成が阻害され、滑らかな縁が形成された。さらに、*CIN*-like *TCP* 遺伝子の発現量が増加した *mir319a* 変異体の葉において鋸歯の形成が阻害さ

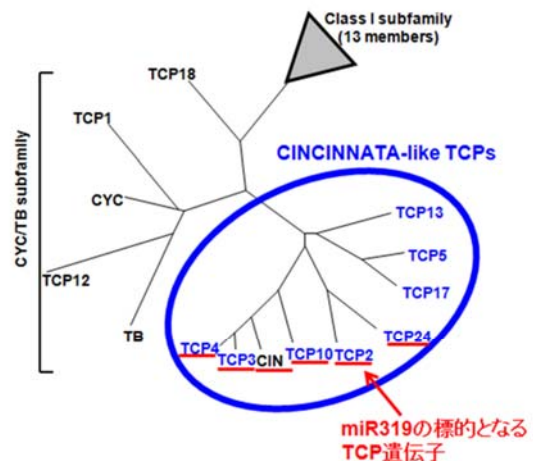


図 3. *TCP* 転写因子の系統樹
シロイヌナズナ *TCP* 遺伝子のうち、青文字の 8 遺伝子が *CIN*-like *TCP* に分類され、赤下線の 5 遺伝子が *miR319* による制御を受ける。
CIN と *CYC* はキンギョソウ、*TB* はトウモロコシの配列で、シロイヌナズナ *TCP* 遺伝子のグループ分けをする目的で系統樹に加えている。

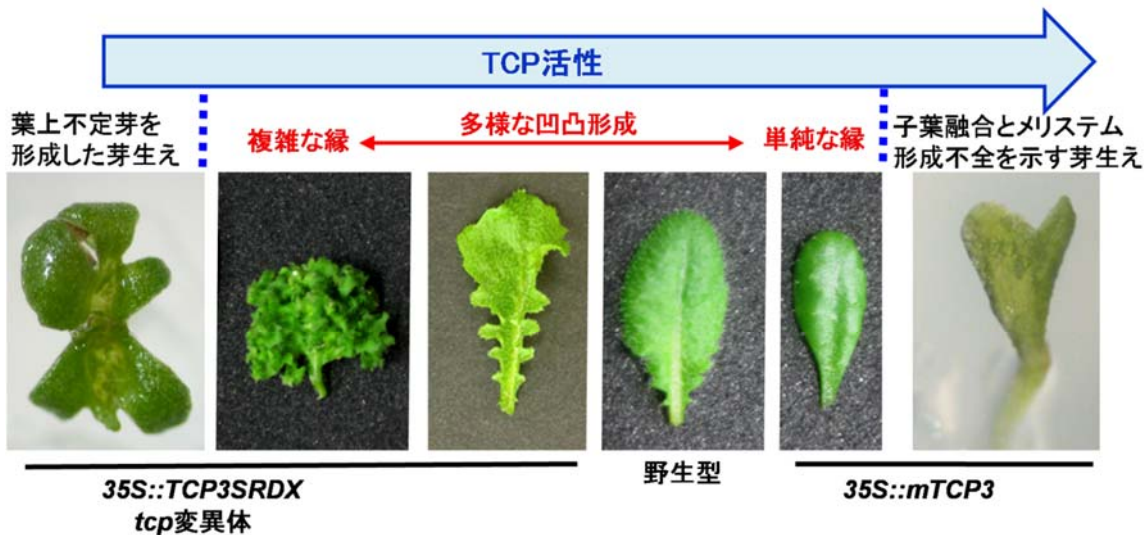


図4. *TCP*遺伝子の機能重複により多様な凹凸形態が形成される。
*TCP*遺伝子が機能重複するので、*TCP*活性を変化させることで段階的に多様な葉が生じる。
 点線の左側は極端に*TCP*活性が弱く、点線の右側は極端に*TCP*活性が強い植物。ともに致死である。

れたことから、*TCP3*を含む *CIN-like TCP* 遺伝子の過剰発現は滑らかな縁形態を生じることが明らかになった。

興味深いことに、7つの *CIN-like TCP* 遺伝子を阻害した変異体では葉上不定芽が形成され、メリステムが過剰に形成される表現型を示した (図4, Koyama et al. 2007, 2010)。逆に、*mTCP3* と *mTCP4* の過剰発現体の強い表現型では子葉が融合し、シュートメリステムの形成が阻害された (Palatnik et al. 2003, Koyama et al. 2007)。極端に *TCP* 転写因子の活性が低いとシュートメリステム形成が促進され、極端に *TCP* 活性が高いとその形成が阻害され、どちらの表現型も致死であった。仮に、一遺伝子による単純な制御を想定すると、過剰発現でも遺伝子破壊でも致死となり、多様な表現型が発現される可能性はない。つまり、*CIN-like TCP* 遺伝子の幾重にもわたる機能重複は、葉の形態形成に頑健性を与えるとともに、形態の多様性発現の基盤となる制御系と考えられた。

さらに、筆者らは *TCP* 転写因子の下流遺伝子の発現解析を行った。まず、*TCP* 転写因子に関連する形態異常が *CUC* 遺伝子に関連する変異体の形態異常と似ているので、*CUC* 遺伝子の発現解析を行ったところ、*TCP* 転写因子の機能阻害が *CUC* 遺伝子ファミリーの異所発現を示し、逆に *mTCP3* により *CUC* 遺伝子ファミリーの発現が抑制されることを見出した (図5 A, Koyama et al. 2007)。次に、マイクロアレイとクロマチン免疫沈降、プロモーター解析から、*TCP3* が *ASYMMETRIC LEAVES1 (AS1)* と *MIR164A*, *SAUR*, *IAA3/SHY2* 遺伝子を活性化することと、これらの標的遺伝子が部分的に *CUC* 遺伝子の発現を抑制することを明らかにした (Koyama et al. 2010)。*AS1* 遺伝子は葉の凹凸形態形成を制御する *MYB* 様転写因子をコードし、*miR164* は *CUC2* 遺伝子の発現を阻害する。*SAUR* と *IAA3/SHY2* はオーキシン応答を抑制する機能を持つ。*mTCP3* を過剰発現する植物はオーキシンへの感受性が低くなるが、*TCP3-SRDX* 植物では異所的にオーキシン応答が誘導されるので、*TCP* 転写因子はオーキシン応答を阻害すると考えられる。このように、*CIN-TCP* 転写因子は冗長かつ多層な制御系の起点となり、凹凸形態形成の鍵であるオーキシン応答と *CUC* 遺伝子を抑制する制御機構が解明

された(図5 A, Koyama et al. 2010, 小山 2011)。

上記の筆者らの発見に加えて, シロイヌナズナ CIN-like TCP の活性制御が報告されている(図5 A)。CIN-like TCP 遺伝子の発現は, 葉の形態形成に重要な *INDOLE-ACETIC-ACID CARBOXYL METHYLTRANSFERASE* 遺伝子,

YABBY 遺伝子, ミトコンドリア ATP 合成酵素サブユニット遺伝子によって調節される (Qin et al. 2005, Robinson et al. 2009, Sarojam et al. 2010)。さらに, TCP 転写因子の翻訳後調節による凹凸形態の制御も報告されている。

CIN-like TCP は転写抑制因子と相互作用し, 当因子による阻害的な調節を受ける (Tao et al. 2013)。TCP3 はオーキシン作用を阻害するフラボノイドを介した制御を

行う (Li & Zachgo 2013)。また, TCP4 はクロマチンリモデリング因子と相互作用し, サイトカイニン応答抑制因子遺伝子の発現を活性化する (Efroni et al. 2014)。興味深いことに, TCP4 が CUC2 と CUC3 と相互作用し, 翻訳後レベルで CUC 転写因子の機能を阻害する可能性も指摘されている (Rubio-Somoza et al. 2014)。一方, TCP4 はジベレリンやジャスモン酸の生合成を促進するとともに, 細胞分裂抑制因子の発現を活性化する (Schommer et al. 2009, 2014, Sarvepalli & Nath 2011)。このように, CIN-like TCP 転写因子は転写, 転写後, 翻訳後の各レベルで調節され, 様々な下流遺伝子の発現制御を介して葉の凹凸形態を形成する。

5. 複葉における TCP 転写因子の役割

上述のようなシロイヌナズナ CIN-like TCP 転写因子による凹凸形態の形成について, 複数の植物種で共通な制御系が指摘されている。CRES-T による転写因子の機能阻害を利用して園芸的価値を付与することを目的とした「花き CRES-T プロジェクト」では (Ohtsubo 2011), CIN-like TCP 転写因子を SRDX 配列に融合しドミナントネガティブ体として用いることにより, トレニア, シクラメン, バラ, アサガオで葉や花弁が縮れたフリンジ咲きのような形態が得られた (図6、Narumi et al. 2011, Gion et al. 2011, Tanaka et al. 2011, Ono et al. 2012)。複葉を形成するバラにおいて, シロイヌナズナ TCP3-SRDX が小葉の数を増加させたので, 複

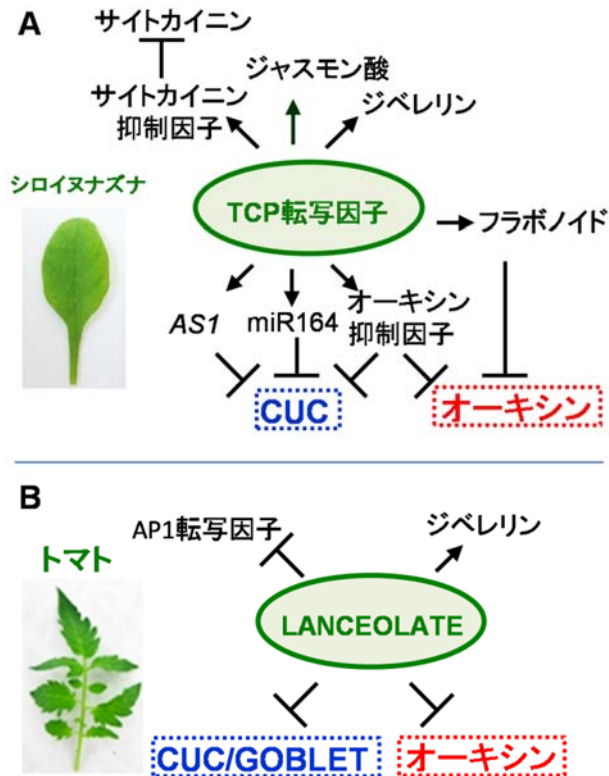


図5. シロイヌナズナ(A)とトマト(B)におけるTCP転写因子の下流遺伝子ネットワークの模式図
矢印は活性化をT字線は抑制を示す。トマト LANCEOLATEがGOBLET遺伝子の発現やオーキシン応答を阻害する機構は不明である。詳細は本文を参照。

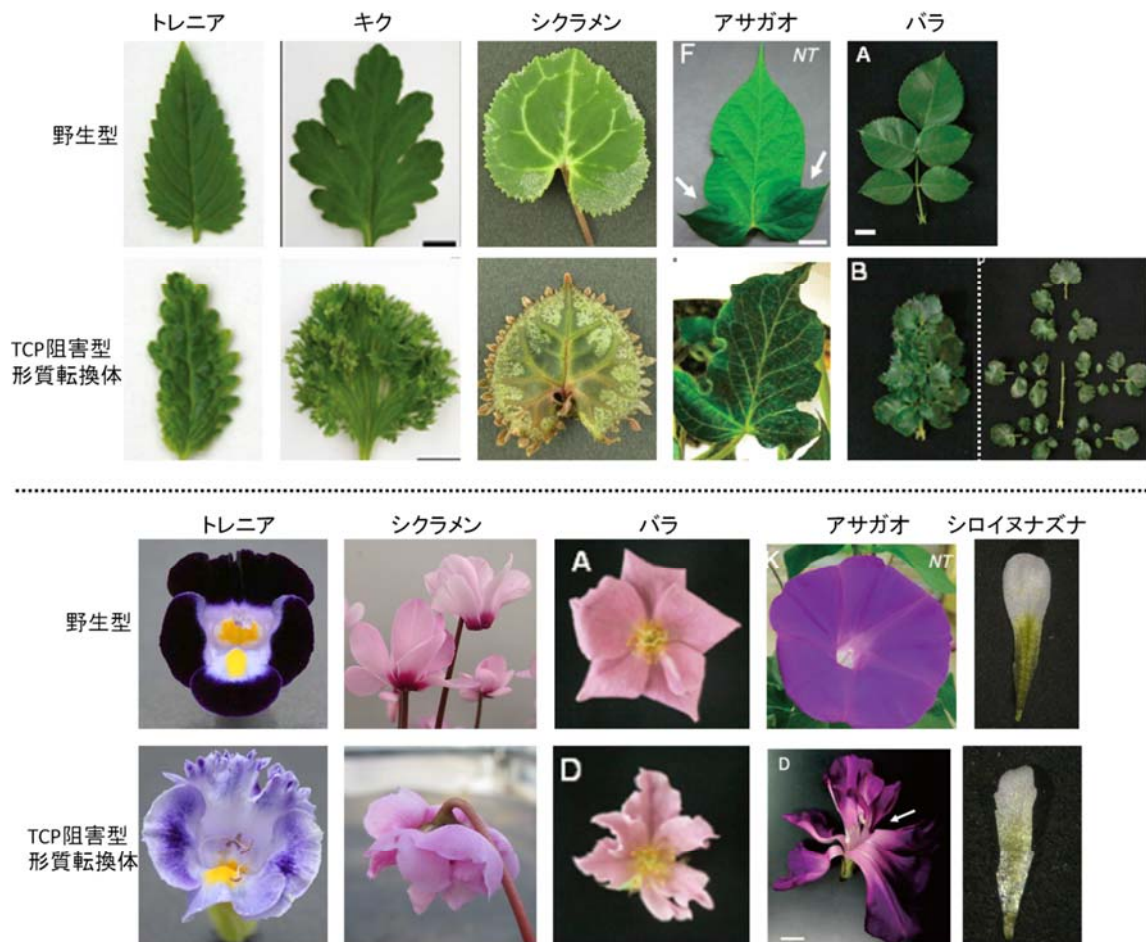


図6 TCP転写因子の阻害による凹凸形態の付与。

葉（上段）と花（下段）における野生型と形質転換体の表現型をそれぞれ列記している。この図では正確なスケールは反映されていない。詳細は原著論文を参照のこと。トレニア、キク (Narumi et al. 2011)、シクラメン (Tanaka et al. 2011)、バラ (Gion et al. 2011)、アサガオ (Ono et al. 2012)、シロイヌナズナ (Koyama et al. 2007)。転載に際して、出版社の許可を得ている。

葉においてもシロイヌナズナと同様の制御系が存在することが示唆された (図 6、Gion et al. 2011)。

一方、トマトは栽培種であるので、育種の過程で葉の形態が変化した自然突然変異株が維持されてきた。それら表現型異常の解析から葉の凹凸形態を形成する遺伝子が同定された (Chen et al. 1997, Parnis et al. 1997, Jasinski et al. 2008, Kimura et al. 2009, David-Schwartz et al. 2009, Naz et al. 2013)。トマトの自然突然変異 *lanceolate* 変異体は、ヘテロ接合体では小葉をほとんど形成しない単葉に似た表現型を示し、ホモ接合体は子葉の融合やシュートメリステムの形成不全を伴う異常を示し、致死である (Mathan & Jenkins 1962, Settler 1964)。その異常の原因遺伝子が同定された結果、CIN-like TCP 転写因子をコードする *LANCEOLATE (LA)* の miR319 標的配列に塩基置換があり、*LA* 遺伝子が過剰に発現していることが明らかとなった (Ori et al. 2007)。逆に、miR319 を過剰発現し、*LA* を含む CIN-like TCP 遺伝子の発現を抑制した形質転換トマトでは葉の形態が複雑化し、小葉の形成が著しく促進された。これらの表現型はシロイヌナズナで CIN-like TCP 転写因子が引き起こす形態変化と共通であった。

LA がオーキシン応答と *CUC/GOB* 遺伝子の発現を阻害する点はシロイヌナズナ CIN-like TCP の機能と似ている (図 5 B)。*LA* 遺伝子の過剰発現を示す *lanceolate* 変異体では、野生型

で認められる小葉原基でのオーキシン応答と *CUC/GOB* 遺伝子の発現が阻害される (Blein et al. 2008, Ben-Gera & Ori 2012)。一方, *LA* はジベレリン応答の促進因子としても機能する (Yanai et al. 2011)。ジベレリンの投与, あるいは *procera* 変異体 (ジベレリン受容体の変異による構成的ジベレリン応答変異体) との交配により, *miR319* 過剰発現体の小葉の過剰な形成が阻害される。さらに, *LA* が *APETALA1 (API) /FRUITFUL* 遺伝子を標的とすることも明らかとなっている (Burko et al. 2013)。シロイヌナズナでは *jaw-d* 変異体で *API* 遺伝子の発現が上昇する (Li et al. 2012), *TCP* 転写因子による *API* 遺伝子の発現制御について詳細は不明である。

単葉と複葉で共通な *CIN-like TCP* 転写因子の機能が明らかにされつつあるが, 種特異的な機能についての知見は断片的である。*CIN-like TCP* 遺伝子はシロイヌナズナとトマトで, ともに葉で発現する (Palatnik et al. 2003, Koyama et al. 2007, Ori et al. 2007)。葉原基における *LA* 相同遺伝子の発現の開始時期をナス科植物で比較した研究では, 単葉では葉の発生の早い時期に *LA* の発現が誘導され, 複葉では比較的遅れて *LA* の発現が誘導されると報告された (Shleizer-Buruko et al. 2011)。また, シロイヌナズナでは, *CIN-like TCP* の発現量を発生時期特異的に改変したところ, 凹凸形態変化を誘導可能な時期が規定されていると提案された (Efroni et al. 2008)。このような時期的な幅を規定する制御が形態の多様性発現に関わっているのかもしれないが, 葉原基から成熟葉を形成する過程は非常に多様であり (Hagemann & Gleissberg 1996), なお一層の解析が必要である。

6. 終わりに

進化の過程で, 単葉と複葉の変換など形態の大きな変化は何度も行われている。最近, アブラナ科の植物は進化の過程でホメオドメイン転写因遺伝子が重複や消失することで, 葉の凹凸形態を変化させたと報告されている (Vlad et al. 2014, Sicard et al. 2014)。このように新たに獲得あるいは消失した遺伝子が *TCP* 転写因子とその制御系にどのような影響を与えるのか興味深い。また, 本稿では, 主に単葉と複葉に共通な凹凸形態形成の制御機構について述べたが, 植物種特異的な制御機構も注力すべき解析対象である (Efroni et al. 2010, Tsukaya 2014)。種特異的な制御機構と *TCP* 転写因子がどのように相互作用するのか, 今後の解析が待たれる。

本稿では, *TCP* 転写因子の役割を中心にして, 遺伝子機能重複と多層的な活性調節を基盤とした葉の凹凸形態の形成機構について述べてきた。最近になって, 加齢による葉型の変化に *TCP* 転写因子が関わると指摘されたが, 内生シグナルと *TCP* 転写因子との相互作用の解析は端緒についたばかりである (Rubio-Somoza et al. 2014)。*lanceolate* 変異体では *KNOX* 遺伝子を過剰発現しても表現型は *lanceolate* 変異体に似た単純な形態であるので (Hareven et al. 1996), *TCP* 転写因子と *KNOX* 遺伝子の機能が相互作用することも明らかである。今後は, 複数の情報を *TCP* 転写因子が統合してどのように葉の形態として出力するのか, 他の制御系との相互作用解析も重要となる。また, *TCP* 転写因子による情報の出力は標的遺伝子を網羅的に同定することにより理解できる。これらの解析により, 新たな凹凸形態の制御因子を探索し, 葉の周縁部の細胞がどのように分裂と伸長を協調するのか明らかにしたい。さらに遺伝子レベルの知見を利用して, 平滑な周縁部と凹凸部でそもそも何が違うのか, 分子実体の解

明にも迫りたい。

7. 謝辞

京都大学生態学研究センター・工藤洋博士からタナツケバナ属植物 *Cardamine dentata* を分与いただき、お礼を申し上げます。本総説で紹介した形質転換植物に関して、トレニアとキクは農研機構花き研究所・大坪憲弘博士、シクラメンは北興化学工業株式会社・寺川輝彦博士、バラはサントリーグローバルイノベーションセンター株式会社・田中良和博士、アサガオは筑波大学遺伝子実験センター・小野道之博士による研究成果である。著者が研究を遂行するうえで、産業技術総合研究所・高木優博士、京都大学大学院生命科学研究科・佐藤文彦博士にお世話になった。名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所・為重才覚博士、立教大学理学部・中田未友希博士、匿名の査読者の先生に、貴重なご意見を頂戴し、感謝申し上げます。本研究は科学研究費補助金基盤 C (26440148) による支援を受けた。

8. 引用文献

- Allen, E., Xie, Z., Gustafson, A.M., & Carrington, J.C. 2005. MicroRNA-directed phasing during trans-acting siRNA biogenesis in plants. *Cell* 121: 207-221.
- Andriankaja, M., Dhondt, S., De Bodt, S., Vanhaeren, H., Coppens, F., De Milde, L., Mühlenbock, P., Skiryecz, A., Gonzalez, N., Beemster, G.T., & Inzé, D. 2012. Exit from proliferation during leaf development in *Arabidopsis thaliana*: a not-so-gradual process. *Dev. Cell* 22: 64-78.
- Bar, M., & Ori, N. 2014. Leaf development and morphogenesis. *Development* 141: 4219-4230.
- Ben-Gera, H., & Ori, N. 2012. Auxin and LANCEOLATE affect leaf shape in tomato via different developmental processes. *Plant Signal Behav.* 7: 1255-1257.
- Ben-Gera, H., Shwartz, I., Shao, M.R., Shani, E., Estelle, M., & Ori, N. 2012. ENTIRE and GOBLET promote leaflet development in tomato by modulating auxin response. *Plant J.* 70: 903-915.
- Berger, Y., Harpaz-Saad, S., Brand, A., Melnik, H., Sirding, N., Alvarez, J.P., Zinder, M., Samach, A., Eshed, Y., & Ori, N. 2009. The NAC-domain transcription factor GOBLET specifies leaflet boundaries in compound tomato leaves. *Development* 136: 823-832.
- Bilsborough, G.D., Runions, A., Barkoulas, M., Jenkins, H.W., Hasson, A., Galinha, C., Laufs, P., Hay, A., Prusinkiewicz, P., & Tsiantis, M. 2011. Model for the regulation of *Arabidopsis thaliana* leaf margin development. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 108: 3424-3429.
- Blein, T., Pulido A., Vialette-Guiraud, A., Nikovics, K., Morin, H., Hay, A., Johansen, I.E., Tsiantis, M., & Laufs P.A. 2008. Conserved molecular framework for compound leaf development. *Science* 322: 1835-1839.
- Burko, Y., Shleizer-Burko, S., Yanai, O., Shwartz, I., Zelnik, I.D., Jacob-Hirsch, J., Kela, I., Eshed-Williams, L., & Ori, N. 2013. A role for APETALA1/fruitfull transcription factors in tomato leaf development. *Plant Cell* 25: 2070-2083.
- Byrne M.E. 2009. A role for the ribosome in development. *Trends Plant Sci.* 14: 512-519.
- Chen, J.J., Janssen, B.J., Williams, A., & Sinha, N. 1997. A gene fusion at a homeobox locus:

- alterations in leaf shape and implications for morphological evolution. *Plant Cell* 9: 1289-1304.
- Cockcroft, C.E., den Boer, B.G., Healy, J.M., & Murray, J.A. 2000. Cyclin D control of growth rate in plants. *Nature* 405: 575-579.
- David-Schwartz, R., Koenig, D., & Sinha, N.R. 2009. LYRATE is a key regulator of leaflet initiation and lamina outgrowth in tomato. *Plant Cell* 21: 3093-3104.
- Donnelly, P.M., Bonetta, D., Tsukaya, H., Dengler, R.E., & Dengler, N.G. 1999. Cell cycling and cell enlargement in developing leaves of *Arabidopsis*. *Dev. Biol.* 215: 407-419.
- Efroni, I., Blum, E., Goldshmidt, A., & Eshed, Y. 2008. A protracted and dynamic maturation schedule underlies *Arabidopsis* leaf development. *Plant Cell* 20: 2293-2306.
- Efroni, I., Eshed, Y., & Lifschitz, E. 2010. Morphogenesis of simple and compound leaves: a critical review. *Plant Cell* 22: 1019-1032.
- Efroni, I., Han, S.K., Kim, H.J., Wu, M.F., Steiner, E., Birnbaum, K.D., Hong, J.C., Eshed, Y., & Wagner, D. 2013. Regulation of leaf maturation by chromatin-mediated modulation of cytokinin responses. *Dev. Cell* 24: 438-445.
- Engelhorn, J., Reimer, J.J., Leuz, I., Göbel, U., Huette, I. B., Farrona, S., & Turck, F. 2012. DEVELOPMENT-RELATED PcG TARGET IN THE APEX 4 controls leaf margin architecture in *Arabidopsis thaliana*. *Development* 139: 2566-2575.
- Fahlgren, N., Montgomery, T.A., Howell, M.D., Allen, E., Dvorak, S.K., Alexander, A.L., & Carrington, J.C. 2006. Regulation of AUXIN RESPONSE FACTOR3 by TAS3 ta-siRNA affects developmental timing and patterning in *Arabidopsis*. *Curr. Biol.* 16: 939-944.
- Gion, K., Suzuri, R., Shikata, M., Mitsuda, N., Oshima, Y., Koyama, T., Ohme-Takagi, M., Ohtsubo, N., & Tanaka, Y. 2011. Morphological changes of *Rosa x hybrida* by a chimeric repressor of *Arabidopsis* TCP3. *Plant Biotechnol.* 28: 149-152.
- Gregory, B.D., O'Malley, R.C., Lister, R., Urich, M.A., Tonti-Filippini, J., Chen, H., Millar, A.H., & Ecker, J.R. 2008. A link between RNA metabolism and silencing affecting *Arabidopsis* development. *Dev. Cell* 14: 854-866.
- Hagemann, W., & Gleissberg, S. 1996. Organogenetic capacity of leaves: The significance of marginal blastozones in angiosperms. *Plant Syst. Evol.* 1999: 121-152.
- Hareven, D., Gutfinger, T., Parnis, A., Eshed, Y., & Lifschitz, E. 1996. The making of a compound leaf: Genetic manipulation of leaf architecture in tomato. *Cell* 84: 735-744.
- Hasson, A., Plessis, A., Blein, T., Adroher, B., Grigg, S., Tsiantis, M., Boudaoud, A., Damerval, C., & Laufs, P. 2011. Evolution and diverse roles of the CUP-SHAPED COTYLEDON genes in *Arabidopsis* leaf development. *Plant Cell* 23: 54-68.
- Hay, A., Barkoulas, M., & Tsiantis, M. 2006. ASYMMETRIC LEAVES1 and auxin activities converge to repress BREVIPEDICELLUS expression and promote leaf development in *Arabidopsis*. *Development* 133: 3955-3961.
- Hay, A., & Tsiantis, M. 2006. The genetic basis for differences in leaf form between *Arabidopsis thaliana* and its wild relative *Cardamine hirsuta*. *Nat. Genet.* 38: 942-947.

- Hay, A., & Tsiantis, M. 2010. KNOX genes: versatile regulators of plant development and diversity. *Development* 137: 3153-3165.
- Hiratsu, K., Matsui, K., Koyama, T., & Ohme-Takagi, M. 2003. Dominant repression of target genes by chimeric repressors that include the EAR motif, a repression domain, in *Arabidopsis*. *Plant J.* 34: 733-739.
- Horiguchi, G., Van Lijsebettens, M., Candela, H., Micol, J.L., & Tsukaya, H. 2012. Ribosomes and translation in plant developmental control. *Plant Sci.* 191-192: 24-34.
- Hunter, C., Willmann, M.R., Wu, G., Yoshikawa, M., de la Luz Gutie' rrez-Nava, M., & Poethig, S.R. 2006. Trans-acting siRNA-mediated repression of ETTIN and ARF4 regulates heteroblasty in *Arabidopsis*. *Development* 133: 2973-2981.
- Jasinski, S., Tattersall, A., Piazza, P., Hay, A., Martinez-Garcia, J.F., Schmitz, G., Theres, K., McCormick, S., & Tsiantis M. PROCERA encodes a DELLA protein that mediates control of dissected leaf form in tomato. *Plant J.* 56: 603-612.
- Kawamura, E., Horiguchi, G., & Tsukaya, H. 2010. Mechanisms of leaf tooth formation in *Arabidopsis*. *Plant J.* 62: 429-441.
- Kimura, S., Koenig, D., Kang, J., Yoong, F.Y., & Sinha, N. 2008. Natural variation in leaf morphology results from mutation of a novel KNOX gene. *Curr. Biol.* 18: 672-677.
- 木村成介 2013 複葉の発生と進化 生物の科学 遺伝 67: 50-56.
- Koenig, D., Bayer, E., Kang, J., Kuhlemeier, C., & Sinha, N. 2009. Auxin patterns *Solanum lycopersicum* leaf morphogenesis. *Development* 136: 2997-3006.
- Kougioumoutzi, E., Cartolano, M., Canales, C., Dupré, M., Bramsiepe, J., Vlad, D., Rast, M., Dello Ioio, R., Tattersall, A., Schnittger, A., Hay, A., & Tsiantis, M. 2013. SIMPLE LEAF3 encodes a ribosome-associated protein required for leaflet development in *Cardamine hirsuta*. *Plant J.* 73: 533-545.
- Koyama, T., Furutani, M., Tasaka, M., & Ohme-Takagi, M. 2007. TCP transcription factors control the morphology of shoot lateral organs via negative regulation of the expression of boundary-specific genes in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 19: 473-484.
- Koyama, T., Mitsuda, N., Seki, M., Shinozaki, K., & Ohme-Takagi, M. 2010. TCP transcription factors regulate the activities of ASYMMETRIC LEAVES1 and miR164, as well as the auxin response, during differentiation of leaves in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 22: 3574-3588.
- Koyama, T., Ohme-Takagi, M., & Sato, F. 2011. Generation of serrated and wavy petals by inhibition of the activity of TCP transcription factors in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Signal Behav.* 6: 697-699.
- 小山知嗣 2011 平らな葉を縮れさせてわかったこと 生物の科学 遺伝 65: 15-23.
- Koyama, T., Sato, F., & Ohme-Takagi, M. 2012. CRES-T for the functional analysis of transcription factors and modification of morphological traits in plants. *Curr. Biotechnol.* 1: 23-32.
- Laubinger, S., Sachsenberg, T., Zeller, G., Busch, W., Lohmann, J.U., Ratsch, G., & Weigel, D. 2008. Dual roles of the nuclear cap-binding complex and SERRATE in pre-mRNA splicing and microRNA processing in *Arabidopsis thaliana*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 105: 8795-8800.

- Li, S., & Zachgo, S. 2013. TCP3 interacts with R2R3-MYB proteins, promotes flavonoid biosynthesis and negatively regulates the auxin response in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.* 76: 901-913.
- Moschopoulos, A., Derbyshire, P., & Byrne, M.E. 2012. The *Arabidopsis* organelle-localized glycyl-tRNA synthetase encoded by EMBRYO DEFECTIVE DEVELOPMENT1 is required for organ patterning. *J. Exp. Bot.* 63: 5233-5243.
- Martín-Trillo, M., & Cubas, P. 2010. TCP genes: a family snapshot ten years later. *Trends Plant Sci.* 15: 31-39.
- Mathan, D., & Jenkins, J. 1962. A morphogenic study of lanceolate, a leaf-shape mutant in the tomato. *Am. J. Bot.* 49: 504-514.
- Nakata, M., & Okada, K. 2013. The leaf adaxial-abaxial boundary and lamina growth. *Plants* 2: 174-202.
- Nakayama, H., Nakayama, N., Seiki, S., Kojima, M., Sakakibara, H., Sinha, N., & Kimura, S. 2014. Regulation of the KNOX-GA gene module induces heterophyllic alteration in North American lake cress. *Plant Cell* 26: 4733-48
- Narumi, T., Aida, R., Koyama, T., Yamaguchi, H., Sasaki, K., Shikata, M., Nakayama, M., Ohme-Takagi, M., & Ohtsubo, N. 2011. *Arabidopsis* chimeric TCP3 repressor produces novel floral traits in *Torenia fournieri* and *Chrysanthemum morifolium*. *Plant Biotechnol.* 28: 131-140.
- Nath, U., Crawford, B.C., Carpenter, R., & Coen, E. 2003. Genetic control of surface curvature. *Science* 299: 1404-1407.
- Naz, A.A., Raman, S., Martinez, C.C., Sinha, N.R., Schmitz, G., & Theres, K. 2013. Trifoliolate encodes an MYB transcription factor that modulates leaf and shoot architecture in tomato. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 110: 2401-2406.
- Nelissen, H., Fleury, D., Bruno, L., Robles, P., De Veylder, L., Traas, J., Micol, J.L., Van Montagu, M., Inzé, D., & Van Lijsebettens, M. 2005. The elongata mutants identify a functional Elongator complex in plants with a role in cell proliferation during organ growth. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 102: 7754-7759.
- Nikovics, K., Blein, T., Peaucelle, A., Ishida, T., Morin, H., Aida, M., & Laufs, P. 2006. The balance between the MIR164A and CUC2 genes controls leaf margin serration in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 18: 2929-2945.
- Ohtsubo, N. 2011. Beyond the blue rose: Modification of floral architecture with plant-specific chimeric repressors. *Plant Biotechnol.* 28: 113-121.
- Ono, M., Hiyama, S., Higuchi, Y., Kamada, N., Nitasaka, E., Koyama, T., Mitsuda, N., Ohme-Takagi, M., & Sage-Ono, K. 2012. Morphological changes in *Ipomoea nil* using chimeric repressors of *Arabidopsis* TCP3 and TCP5. *Plant Biotechnol.* 29: 457-463.
- Ori, N., Eshed, Y., Chuck, G., Bowman, J.L., & Hake, S. 2002. Mechanisms that control knox gene expression in the *Arabidopsis* shoot. *Development* 127: 5523-5532.
- Ori, N., Cohen, A.R., Etzioni, A., Brand, A., Yanai, O., Shleizer, S., Menda, N., Amsellem, Z., Efroni, I., Pekker, I., Alvarez, J.P., Blum, E., Zamir, D., & Eshed, Y. 2007. Regulation of LANCEOLATE

- by miR319 is required for compound-leaf development in tomato. *Nat. Genet.* 39: 787–791.
- Palatnik, J.F., Allen, E., Wu, X., Schommer, C., Schwab, R., Carrington, J.C., & Weigel, D. 2003. Control of leaf morphogenesis by microRNAs. *Nature* 425: 257-263.
- Parnis, A., Cohen, O., Gutfinger, T., Hareven, D., Zamir, D., & Lifschitz, E. 1997. The dominant developmental mutants of tomato, Mouse-ear and Curl, are associated with distinct modes of abnormal transcriptional regulation of a Knotted gene. *Plant Cell* 9: 2143-2158.
- Poethig S. 1997. Leaf morphogenesis in flowering plants. *Plant Cell* 9: 1077-1087.
- Qin, G., Gu, H., Zhao, Y., Ma, Z., Shi, G., Yang, Y., Pichersky, E., Chen, H., Liu, M., Chen, Z., & Qu, L.J. 2005. An indole-3-acetic acid carboxyl methyltransferase regulates *Arabidopsis* leaf development. *Plant Cell* 17: 2693-2704.
- Robison, M.M., Ling, X., Smid, M.P., Zarei, A., & Wolyn, D.J. 2009. Antisense expression of mitochondrial ATP synthase subunits OSCP (ATP5) and gamma (ATP3) alters leaf morphology, metabolism and gene expression in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol.* 50:1840-1850.
- Rosado, A., Li, R., van de Ven, W., Hsu, E., & Raikhel, N.V. 2012. *Arabidopsis* ribosomal proteins control developmental programs through translational regulation of auxin response factors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 109: 19537-19544.
- Rubio-Somoza, I., Zhou, C.M., Confraria, A., Martinho, C., von Born, P., Baena-Gonzalez, E., Wang, J.W., & Weigel, D. 2014. Temporal control of leaf complexity by miRNA-regulated licensing of protein complexes. *Curr. Biol.* 24: 2714-2719.
- Sarojam, R., Sappl, P.G., Goldshmidt, A., Efroni, I., Floyd, S.K., Eshed, Y., & Bowman, J.L. 2010. Differentiating *Arabidopsis* shoots from leaves by combined YABBY activities. *Plant Cell* 22: 2113-2130.
- Sarvepalli, K., & Nath, U. 2011. Hyper-activation of the TCP4 transcription factor in *Arabidopsis thaliana* accelerates multiple aspects of plant maturation. *Plant J.* 67: 595-607.
- Schommer, C., Palatnik, J.F., Aggarwal, P., Chételat, A., Cubas, P., Farmer, E.E., Nath, U., & Weigel, D. 2008. Control of jasmonate biosynthesis and senescence by miR319 targets. *PLOS Biol.* 23: e230.
- Schommer, C., Debernardi, J.M., Bresso, E.G., Rodriguez, R.E., & Palatnik, J.F. 2014. Repression of cell proliferation by miR319-regulated TCP4. *Mol. Plant* 7: 1533-1544.
- Settler, R. 1964. Dosage effects of the Lanceolate gene in tomato. *Am. J. Bot.* 51: 253–264.
- Shleizer-Burk, S., Burko, Y., Ben-Herzel, O., & Ori, N. 2011. Dynamic growth program regulated by LANCEOLATE enables flexible leaf patterning. *Development* 138: 695-704.
- Sicard, A., Thamm, A., Marona, C., Lee, Y.W., Wahl, V., Stinchcombe, J.R., Wright, S.I., Kappel, C., & Lenhard, M. 2014. Repeated evolutionary changes of leaf morphology caused by mutations to a homeobox gene. *Curr. Biol.* 24: 1880-1886.
- Spinelli, S.V., Martin, A.P., Viola, I.L., Gonzalez, D.H., & Palatnik, J.F. 2011. A mechanistic link between STM and CUC1 during *Arabidopsis* development. *Plant Physiol.* 156: 1894-1904.
- Sugio, A., Kingdom, H.N., MacLean, A.M., Grieve, V.M., & Hogenhout SA. 2011. Phytoplasma

- protein effector SAP11 enhances insect vector reproduction by manipulating plant development and defense hormone biosynthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 108: E1254-1263.
- Szakonyi D., & Byrne M.E. 2011. Ribosomal protein L27a is required for growth and patterning in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.* 65: 269-281.
- Takahashi, T., Matsuhara, S., Abe, M., & Komeda, Y. 2002. Disruption of a DNA topoisomerase I gene affects morphogenesis in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 14: 2085-2093.
- Tameshige, T., Fujita, H., Watanabe, K., Toyokura, K., Kondo, M., Tatematsu, K., Matsumoto, N., Tsugeki, R., Kawaguchi, M., Nishimura, M., & Okada K. 2013. Pattern dynamics in adaxial-abaxial specific gene expression are modulated by a plastid retrograde signal during *Arabidopsis thaliana* leaf development. *PLOS Genet.* 9: e1003655.
- Tanaka, Y., Yamamura, T., Oshima, Y., Mitsuda, N., Koyama, T., Ohme-Takagi, M., & Terakawa, T. 2011. Creating ruffled flower petals in *Cyclamen persicum* by expression of the chimeric cyclamen TCP repressor. *Plant Biotechnol.* 28:141-147.
- Tao, Q., Guo, D., Wei, B., Zhang, F., Pang, C., Jiang, H., Zhang, J., Wei, T., Gu, H., Qu, L.J., & Qin, G. 2013. The TIE1 transcriptional repressor links TCP transcription factors with TOPLESS/TOPLESS-RELATED corepressors and modulates leaf development in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 25: 421-437.
- Tsukaya, H. 2014. Comparative leaf development in angiosperms. *Curr. Opin. Plant Biol.* 17: 103-109.
- Ulmasov, T., Murfet, J., Hagen, G., & Guilfoyle, T.J. 1997. Aux/IAA proteins repress expression of reporter genes containing natural and highly active synthetic auxin response elements. *Plant Cell* 9: 1963-1971.
- Vlad, D., Kierzkowski, D., Rast, M.I., Vuolo, F., Dello Ioio, R., Galinha, C., Gan, X., Hajheidari, M., Hay, A., Smith, R.S., Huijser, P., Bailey, C.D., & Tsiantis, M. 2014. Leaf shape evolution through duplication, regulatory diversification, and loss of a homeobox gene. *Science* 343: 780-783.
- Wyrzykowska, J., Pien, S., Shen, W.H., & Fleming, A.J. 2002. Manipulation of leaf shape by modulation of cell division. *Development* 129: 957-964.
- Yanai, O., Shani, E., Russ, D., & Ori, N. 2011. Gibberellin partly mediates LANCEOLATE activity in tomato. *Plant J.* 68: 571-582.
- Zhan, X., Wang, B., Li, H., Liu, R., Kalia, R.K., Zhu, J.K., & Chinnusamy, V. 2012. *Arabidopsis* proline-rich protein important for development and abiotic stress tolerance is involved in microRNA biogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 109: 18198-18203.