

イメージングで明らかになる 茎頂メリステムにおける生理活性物質の時空間的パターン

木下 温子
東京都立大学 理学系研究科 生命科学専攻
〒192-0397 東京都八王子市南大沢 1-1

Spatiotemporal pattern of bioactive substances based on imaging technique

Atsuko Kinoshita

Tokyo Metropolitan University
1-1, Minami-Osawa, Hachioji, Tokyo, Japan 192-0397

Keywords: Doming, floral transition, gibberellin metabolism, shoot apical meristem

DOI: 10.24480/bsj-review.13b7.00230

1. はじめに

陸上植物の茎頂メリステムは、胚発生後の過程において地上部の器官形成を担う重要な組織である。その秩序だった形態形成は古くから解剖学的に解析されてきた。また近年の分子生物学の発展により、茎頂メリステムの維持機構で働く生理活性物質の存在や、その作用機構についても多くの知見が得られている。しかしながら、生理活性物質の局在を細胞レベルで明らかにすることは非常に困難であり、また異なる発生ステージにおける生理活性物質の分布の違いなど未解明の現象は多く残されている。本稿では、古典的解剖学の知見とともに、近年の分子生物学的成果を紹介し、イメージング技術を基盤として茎頂メリステムの形態変化や生理活性物質の時空間パターン変化にアプローチする可能性について議論したい。

2. 茎頂メリステムの構造と機能に関わる生理活性物質

2-1. 茎頂メリステムの基本構造

被子植物の茎頂メリステムは垂層分裂を繰り返して層構造を成す外衣 (tunica) と任意の分裂面をもつ細胞からなる内体 (corpus) により構成される (Schmidt 1924)。外衣は通常 L1, L2 層の 2 層から成り、内体に当たる内側の細胞群は L3 層とも呼ばれる (図 1A)。また、組織学的切片における染色の違いから、細胞分裂活性の低い中央帯 (Central zone: CZ)、さかんに細胞分裂を繰り返し側生器官原基に細胞を供給する周辺部 (Peripheral zone: PZ)、これらの下部に位置する髄状部 (Rib zone: RZ) の領域に大別される (Gifford 1954) (図 1B)。

シロイヌナズナを用いた分子遺伝学的解析により、茎頂メリステムの恒常性維持には CZ で発現する *WUSCHEL* (*WUS*) および *CLAVATA3* (*CLV3*) 間における細胞非自律的な相互遺伝子発現制御が重要であることが示されている (図 1C)。*WUS* はホメオドメイン型転写因子をコードし、茎頂メリステムにおける幹細胞 (stem cell) の性質を決定する因子である (Laux et al. 1996)。*WUS* は CZ の中でも特に細胞分裂活性の低い、形成中心 (Organizing center: OC)

と呼ばれる領域で発現し、この領域に属する細胞群は幹細胞ニッチとして機能すると考えられている(Mayer et al. 1998)。一方で、茎頂メリステムの幹細胞は OC の上部の領域に位置する。この領域に属する細胞は、一定の細胞分裂活性を持ち、自己と同じ幹細胞の性質をもつ細胞と、PZ へ移行し分化する運命に転じる細胞とに非対称分裂する能力を有するとされる(Laux 2003)。幹細胞で発現する *CLV3* は分泌性のペプチドリガンドをコードし、翻訳産物の C 末端に存在する進化的に保存された CLE ドメインが切り出され、化学修飾を受けて成熟型 *CLV3* ペプチドとなり、細胞外に分泌される (Fletcher 1999; Kondo et al. 2006; Ohyama et al. 2009)。成熟型 *CLV3* ペプチドは、OC 周辺で発現する受容体 *CLV1* に認識され、その後細胞内シグナル伝達を経て *WUS* の発現を抑制する (Clark et al. 1997; Ogawa et al. 2008; Shinohara and Matsubayashi 2015)。一方で、*WUS* は原形質連絡を介して幹細胞へと輸送され、*CLV3* 遺伝子の制御領域に直接結合してその発現を正に制御することが示されている (Yadav et al. 2011; Daum et al. 2014)。この結果成立する *WUS-CLV3* 間の負のフィードバック機構により、茎頂メリステムの恒常性が維持されると考えられている。

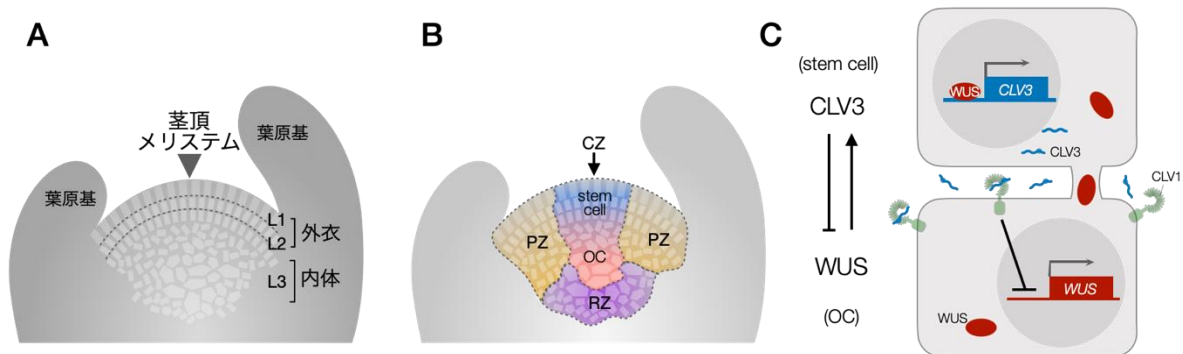


図 1. 茎頂メリステムの構造

(A) 茎頂メリステムの層構造。垂層分裂を繰り返す L1, L2 層が外衣に、任意の分裂面をもつ L3 層が内体に相当する。(B) 茎頂メリステムの細胞組織帯。CZ: 中央部, PZ: 周辺部, RZ: 髄状部, OC: 形成中心。(C) *WUS-CLV3* フィードバック機構。幹細胞から細胞外に分泌された *CLV3* ペプチドは *CLV1* に受容され、その下流で *WUS* の発現を抑制する。*WUS* は原形質連絡を介して幹細胞に移行し、*CLV3* の発現を直接誘導する。

2-2. 茎頂メリステムにおける植物ホルモンの機能

前項で紹介した *CLV3* は、近年植物で数多く見出されているペプチドホルモンの一種である (Matsubayashi and Sakagami 2006; Betsuyaku et al. 2011)。これに加え、従来の低分子植物ホルモンも茎頂メリステムの維持に重要な役割を担うことが知られている。植物ホルモンの機能は多岐にわたるが、本稿ではシロイヌナズナを用いて近年明らかにされた、茎頂メリステムの維持機構に関連する機能について紹介する (図 2)。各植物ホルモンの化学的性質やシグナル伝達機構については本や総説が出版されているのでそちらを参照されたい (浅見 and 柿本 2016)。

サイトカイニン は細胞分裂やシュート再生を誘導する植物ホルモンであり、茎頂メリステムの形成に重要な *KNOX* 型転写因子である *SHOOT MERISTEMLESS (STM)* により正に制御される (Jasinski et al. 2005)。シロイヌナズナの茎頂メリステムにおいては、活性型サイトカ

イニン合成の最終段階で機能する *LONELY GUY (LOG) 4* 遺伝子が L1 層で特異的に発現することから、サイトカニンでは L1 層で合成され求散的に拡散することにより濃度勾配を形成すると考えられている (Chickarmane et al. 2012)。これに対し、サイトカニン受容体をコードする *AHK4* は OC を含む領域で強く発現し (Gordon et al. 2009)，さらにその下流で転写活性化因子として機能する Type-B ARR により *WUS* の発現が直接誘導されることが明らかとなっている (Meng et al. 2017; Xie et al. 2018)。また、サイトカニン添加により *CLV1* の遺伝子発現が低下することも確認されており、CLV シグナル伝達系の抑制により間接的に *WUS* を発現誘導することも示唆されている (Lindsay et al. 2006; Gordon et al. 2009)。一方で、*WUS* はサイトカニン応答の負の制御因子である Type-A ARR の遺伝子発現を抑制することから、*WUS* とサイトカニン応答の間にもフィードバック機構が成立すると考えられる (Leibfried et al. 2005)。コンピューターシミュレーションを用いた解析から、正の制御因子であるサイトカニンと負の制御因子である CLV3 ペプチドの拮抗作用は、*WUS* の特異的な発現部位の決定に重要であることが示されている (Gordon et al. 2009; Chickarmane et al. 2012)。

オーキシンは器官形成や葉序パターンの形成など茎頂メリステムにおける細胞の分化誘導に重要であり、主に PZ で機能すると考えられている (Reinhardt et al. 2003; Vernoux et al. 2011)。とりわけ、オーキシン応答転写因子である MONOPTEROS (MP)/ AUXIN RESPONSE FACTOR (ARF) 5 は、クロマチンリモデリング因子をリクルートすることにより、PZ における遺伝子発現を制御し、器官分化を誘導する重要な因子である (Przemeck et al. 1996; Yamaguchi et al. 2013; Wu et al. 2015; Chung et al. 2019)。一方で、MP/ARF5 は type-A ARR をコードする *ARR7* および *ARR15* の発現抑制を介してサイトカニン応答を調整することにより、茎頂メリステムの幹細胞性維持にも関与することが報告されている (Zhao et al. 2010)。更に、遺伝学的な分子ツールとゲノム解析を組み合わせた詳細な解析により、茎頂メリステムの幹細胞はオーキシンによる分化誘導を受けないこと、その背景には *WUS* によるオーキ

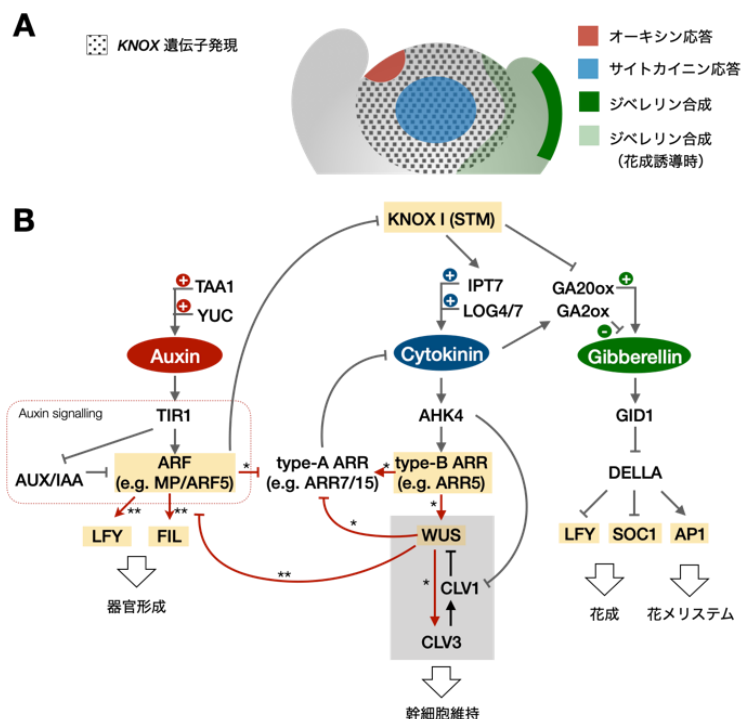


図2. 茎頂メリステムにおける植物ホルモンの機能

(A) 茎頂メリステムにおける植物ホルモンの分布模式図。オーキシン・サイトカニン応答やジベレリン合成酵素の発現、*KNOX* 遺伝子の発現部位を模式的に示す。

(B) 茎頂メリステムにおける植物ホルモンのクロストーク。転写調節をもつ因子を黄色の網掛けで示す。*は直接的転写制御を、**はクロマチンリモデリングを介した転写制御を示す。

シンシグナリングの包括的な遺伝子発現抑制があることが明らかにされた。同時に、茎頂メリステムの幹細胞維持には一定レベルのオーキシシンシグナリングが必要であることも示されており、このように極めて精緻なオーキシシンシグナリングの制御は標的遺伝子の緩やかなヒストン脱アセチル化を介していることが示唆されている (Ma et al. 2019)。このように、WUS-CLV3 間の相互作用を主軸とした茎頂メリステムの幹細胞維持機構は、代表的な植物ホルモンであるオーキシシンとサイトカイニンによる複数のフィードバックを受け、さらに厳密に制御されると考えられる。

オーキシシンとサイトカイニン以外の植物ホルモンについては、茎頂メリステムにおける機能がほとんど明らかにされていないが、ジベレリンに関しては複数の植物種において、KNOX 型転写因子により茎頂メリステムにおけるジベレリン代謝酵素の遺伝子発現が制御されることが示されている (Sakamoto et al. 2001a, 2001b; Hay et al. 2002; Chen et al. 2004; Bolduc and Hake 2009)。また、サイトカイニン欠乏状態においてジベレリンのシグナル伝達を構成的に活性化すると、茎頂メリステムが著しく損なわれることから、KNOX 型転写因子によるサイトカイニンとジベレリンの代謝制御が茎頂メリステムの正常な機能に重要であると考えられている (Jasinski et al. 2005)。興味深いことに、近年著者らが行った解析により、茎頂メリステムにおけるジベレリン生合成酵素の遺伝子発現が花成誘導時にメリステムの PZ まで拡大することが示された (Kinoshita et al. 2020) (図 2A)。この結果は、茎頂メリステムにおける生理活性物質のバランスが植物の発生ステージに応じて変化しうることを示唆している。

3. 植物の成長相転換を制御する生理活性物質

3-1. フロリゲンによる光周期花成

植物はその発生ステージに応じて異なる形態を示す。花成は、植物が栄養生長から生殖生長に転じる重要な成長相転換であり、光周期 (日長)、気温、齢、植物ホルモンなど、複数の外的・内的因子によって制御される (図 3)。これらの外的・内的因子はそれぞれ情報伝達経路を介して *FLOWERING LOCUS T (FT)*, *SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CONSTANS (SOC) 1*, *LEAFY (LFY)* などの経路統合遺伝子へと集約され、最終的には茎頂メリステムにおいて *LFY*, *APETALA (AP) 1*, *FRUITFULL (FUL)* などの花芽形成決定遺伝子を活性化することにより、花メリステムの形成を誘導する (Andrés and Coupland 2012)。

光周期は花成誘導に重要な外的因子の一つであり、春化を必要としない *Columbia* などのシロイヌナズナ実験室栽培系統ではとりわけ強力な花成誘導能を持つ。このシグナル伝達経路で特に重要な役割を持つのが、葉から茎頂へ情報を伝える長距離移行シグナルのフロリゲンである (図 3)。シロイヌナズナやイネの解析から、フロリゲンの実体は FT/Hd3a タンパク質であることが示されている (Corbesier et al. 2007; Tamaki et al. 2007; Jaeger and Wigge 2007; Mathieu et al. 2007)。シロイヌナズナでは長日条件下で葉の維管束篩部細胞における *FT* 遺伝子の発現が誘導され、その翻訳産物である FT タンパク質は茎頂に輸送される。茎頂に到達した FT タンパク質は 14-3-3 タンパク質を介して bZIP 型転写因子である FD と相互作用し、*API* を代表とする花芽形成遺伝子を活性化することにより花メリステムの形成を誘導する (Abe et al. 2005; Wigge et al. 2005; Taoka et al. 2011)。近年、改変型 BiFC を用いたイメージン

グ解析により、花成誘導時の茎頂メリステムにおけるフロリゲン複合体 (FT-FD 複合体) の挙動が詳細に検証され、*API* の発現が開始する原基形成予定部位 (floral anlagen) においてフロリゲン複合体が共局在すること、またフロリゲン複合体は花成誘導後速やかに減少することが明らかにされた (Abe et al. 2019)。この知見は、茎頂メリステムにおけるフロリゲン複合体の時空間的な作用が極めてダイナミックに変化していることを示唆している。

3-2. フロリゲンとアンチフロリゲンによる標的遺伝子の制御

FT は phosphatidylethanolamine binding protein (PEBP) ファミリーに属する約 20kDa のタンパク質であり、花成の誘導因子として機能する。一方、同じ PEBP ファミリーに属する TERMINAL FLOWER (TFL) 1 は花成抑制因子 (アンチフロリゲン) として機能することが知られている (Bradley et al. 1997)。近年、ゲノムワイドな標的配列解析や薬剤処理による発現誘導実験の結果から、FT と TFL1 が FD との複合体形成において競合的に働き、花成時期を制御していることが明らかとなった (Collani et al. 2019; Goretti et al. 2020; Zhu et al. 2020)。特に、花芽形成のマスターレギュレーターをコードする *LFY* は、FT-FD 複合体および TFL1-FD 複合体の共通の標的遺伝子であり、それぞれ正および負の制御を受けることにより、花成の時期を制御すると考えられる。また、TFL1-FD 複合体はアブシジン酸、サイトカニン、ブラシノステロイド、オーキシン、ストリゴラクトンなどの植物ホルモンや、糖のシグナル伝達に関与する遺伝子の抑制にも関与することが示された (Zhu et al. 2020)。これらの生理活性物質は、花芽の形成に促進的に働く一方、側枝の形成を抑制する働きを持つことから、TFL1 は花成の時期だけでなく植物の花序の分枝形態も制御することが示唆されている (図 4A)。

3-3. ジベレリンによる花成誘導

植物ホルモンのジベレリンは、ロゼット植物を中心とする長日植物において、花成誘導に一定の効果を持つとされる内生のシグナルである (Bao et al. 2020)。シロイヌナズナでは、ジベレリン欠損変異体が短日条件下で花成に至らないことから、特に非誘導条件下における花成に必須であると考えられている (Wilson et al. 1992)。組織特異的プロモーターを用いた解析から、ジベレリンは葉および茎頂の両組織において花成に促進的に働くことが明らかにされた (Porri et al. 2012; Galvão et al. 2012) (図 3)。ジベレリンは葉での *FT* 遺伝子発現を誘導する一方、茎頂メリステムにおいては経路統合遺伝子である *SOCI* や *LFY* の遺伝子発現を促進す

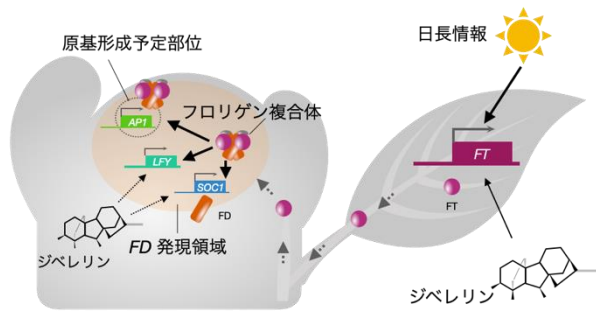


図 3. シロイヌナズナにおける花成制御

外的・内的因子の情報は葉で受容され、経路統合遺伝子である *FT* の遺伝子発現に集約される。FT タンパク質は長距離移行シグナルとして茎頂に輸送され、メリステムで発現する FD と相互作用してフロリゲン複合体を形成する。フロリゲン複合体の下流で経路統合遺伝子である *SOCI* や *LFY* の発現が誘導され、最終的には原基形成予定部位において花芽形成決定遺伝子である *API* の発現を誘導することにより花器官の分化を決定する。

ることが示されている (Moon et al. 2003; Eriksson et al. 2006; Bao et al. 2019)。しかしながら、長日条件下においてはフロリゲンによる強力な花成誘導の効果に比べ、その機能は限定的である。

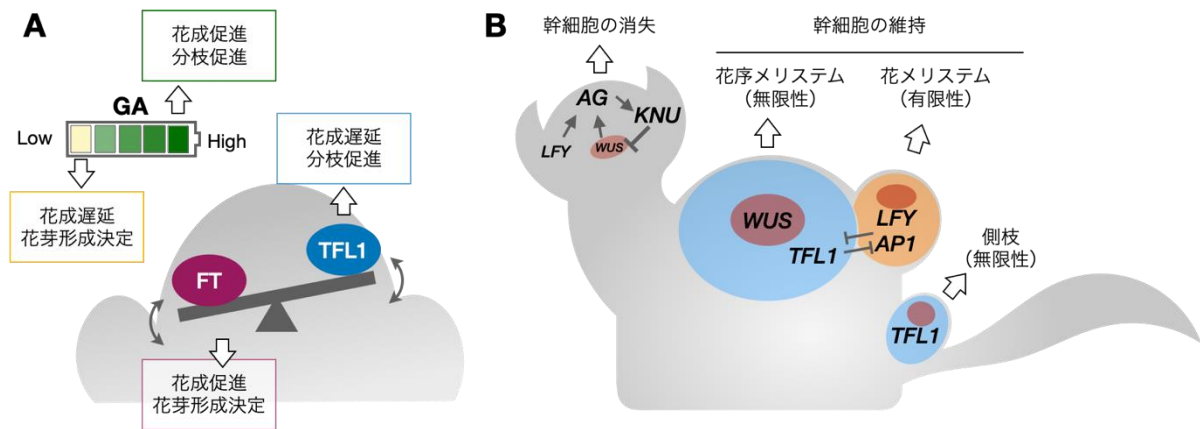


図4. 異なる発生ステージにおけるメリステムのアイデンティティ

(A) 成長相転換期におけるメリステムのアイデンティティ決定。FD のパートナーである FT と TFL1 のバランスは、花成の時期や器官原基のアイデンティティ決定に作用する。また、ジベレリンの濃度も FT/TFL1 とは異なるメカニズムで花成の時期や器官原基のアイデンティティ決定に関与する。(B) 生殖成長期におけるメリステムのアイデンティティ決定。TFL1 (青) は花序および側芽のメリステムで発現し、LFY/API (橙) の発現を抑制することにより花メリステムへの転換を抑制する。LFY/API は花メリステムのアイデンティティを決定し、花器官の分化を誘導する。WUS (赤) により誘導される AG は KNU の発現誘導を介して WUS を抑制し、この結果花メリステムの幹細胞が維持されず終結する。

4. 植物の成長相転換とメリステムの性質転換

4-1. メリステムと発生ステージ

茎頂メリステムの無限性は、植物がその一生を通じて新たな器官を形成し続けるために必須である。その意義は栄養成長期において特に顕著であるが、生殖成長期においてはその限りではない。植物は、その繁殖戦略により生殖成長期におけるメリステムの無限性、有限性を段階的に制御し、その結果として多様な花序形態を生み出している (Sablowski 2007; Benlloch et al. 2015; Périlleux et al. 2019)。

生殖成長期に形成される花原基は幹細胞を有し、複数の花器官を形成する能力をもつことから花メリステムと呼ばれる。一般的に、花メリステムは有限性のメリステムであり、一定の花器官を形成した後に幹細胞の性質が失われ、終結する。この過程に関しては、花メリステムのアイデンティティが確立した後に WUS と LFY によって誘導される AGAMOUS (AG) 転写因子が、ヒストン修飾を介した KNUCKLE (KNU) 発現誘導により WUS の発現を抑制するという、時間差制御機構が明らかにされている (Yanofsky et al. 1990; Lenhard et al. 2001; Sun et al. 2009, 2014)。チューリップやスミレのように単頂花序を持つ植物では、花成にともない茎頂メリステムは花メリステムへと転換し、これはすなわち主茎における無限成長の終結を意味する。一方で、多くの植物種では花成にともない茎頂メリステムは花序メリステムへと転換し、この花序メリステムから側枝あるいは花メリステムが形成される。花序形態によっ

て期間に相違はあるものの、シロイヌナズナのような総状花序をもつ種では、花序メリステムにおいても WUS-CLV3 間の負のフィードバック機構により幹細胞が維持されており、ほぼ永続的に花メリステムを形成する能力をもつ (図 4B)。成長相転換にともない茎頂メリステムが花序メリステムあるいは花メリステムのいずれに転換するのか、また花序メリステムにおける無限性や側方原基のアイデンティティがどのように制御されているのか。これらの点は、生殖成長期におけるメリステムの性質転換と密接な関係があり、また植物における花序形態の多様性を理解する上で重要な要素である。

4-2. 生殖成長期におけるメリステムのアイデンティティ決定

TFL1 は花成抑制因子として働く一方、メリステムのアイデンティティ決定にも作用することが知られている。TFL1 は茎頂メリステムの CZ で発現し、その発現レベルは花成に先立って顕著に上昇する (Bradley et al. 1997)。TFL1 の機能欠損変異体では花序メリステムが早期に花メリステムへと転換し終結することにより、有限花序様の形態を示すことが観察されている。遺伝学的な機能解析により、TFL1 は花メリステムのアイデンティティ決定に必要な LFY や API など MADS ボックス型転写因子をコードする遺伝子の発現を花序メリステムで抑制する機能を持つことが示された。一方で、花メリステムで強く発現する LFY および API は TFL1 の発現を抑制する機能を持ち、このような相互に抑制的な遺伝子発現制御機構により、花序メリステムと花メリステムのアイデンティティが確立される (Ratcliffe et al. 1999) (図 4B)。

生殖成長期において、花序メリステムからは花メリステムのみならず、苞葉の腋芽から側枝として新たな花序メリステムも形成される。シロイヌナズナでは、生殖成長期の前期には茎生葉および側枝を形成し、その後花メリステムを形成する後期へと移行する (Pouteau and Albertini 2011)。生殖成長前期から後期への移行には、植物ホルモンのジベレリンの関与が示唆されている。3-3 で述べたように、シロイヌナズナにおいてジベレリンは栄養成長期から生殖成長期への転換に促進的に働く。一方で、ジベレリンは側枝の形成から花メリステムの形成への転換には抑制的に働き、ジベレリンが高蓄積した遺伝学的背景では側枝の数が増大することが報告されている。側枝と花メリステムのアイデンティティ決定には、ジベレリンシグナリングの標的因子である DELLA タンパク質と SQUAMOSA PROMOTER-BINDING LIKE (SPL) 転写因子による協調的な API 遺伝子の発現制御があることが示されている (Yamaguchi et al. 2014) (図 2B)。上記のように、ジベレリンもまた TFL1 とは異なる作用機構で花序の分枝形態を制御しうると考えられる (図 4A)。

4-3. 成長相転換にともなうメリステムの形態変化

前項で紹介したように、栄養成長期から生殖成長期への転換は、茎頂メリステムから花序メリステムあるいは花メリステムへの転換と捉えられる。この転換の過程には、メリステムにおける遺伝子発現プロファイルのみならず、形態的にも大規模な変化が起こることが明らかにされている (Kwiatkowska 2008)。

成長相転換にともなうメリステムの形態変化のうちで最も顕著なものが、細胞分裂活性の変化である。組織切片を用いた古典的な解剖学的解析から、花成の日長要求性や花序形態によらず様々な植物種において、花成にともない茎頂メリステムの細胞分裂活性が上昇することが報告されている (Kwiatkowska 2008)。特に、細胞分裂活性が低いとされている CZ において細胞分裂の活性化が認められ、細胞組織帯の構造が変化する様子が観察されている (Bodson 1975; Marc and Palmer 1982)。一方で、メリステムの内部の細胞は順々に液胞化し、その結果として茎頂メリステムのサイズは全体的に大きくなり、しばしば高いドーム状の構造 (ドーミング) へと変化する。また、細胞分裂活性の変化の他にも、アブラナ科のシロガラシにおいて花成にともなう原形質連絡の増大や、細胞周期の同調の例などが報告されている (Ormenese et al. 2000, 2002)。

このような細胞分裂活性やメリステムの形態変化の例は数多く報告されているにも関わらず、その分子メカニズムについてはほとんど明らかにされていない。その原因として、これらの知見が主に古典的な解剖学的知見に基づいており、遺伝学的な検証が欠如していることが挙げられる。モデル植物のシロイヌナズナにおいても、領域ごとの細胞分裂活性は検証されているものの、その分子機構については十分検証されているとは言い難い (Laufs et al. 1998; Jacquard et al. 2003; Reddy et al. 2004)。近年、トマトにおいてアンチフロリゲンをコードする *SELF PRUNING (SP)* の発現抑制が解除されることにより早期にドーミングが起こる変異体が単離されており、花成にともなうアンチフロリゲンの増大がメリステムのサイズを制御する可能性が示唆されている (Tal et al. 2017)。また、筆者らは 3D 画像解析を用いて花成にともなう茎頂メリステムの形態変化を定量的に解析し、花成に促進的に働く FT とジベレリンの関与を検証した。その結果、長日条件における花成の誘導に際しメリステムの細胞数と細胞サイズがいずれも増大すること、またこの過程には FT とジベレリンの両者が寄与していることを報告した (Kinoshita et al. 2020)。これらの知見は、メリステムの形態が大きく変化する成長相転換期において、メリステムの恒常性を攪乱する作用をもつ生理活性物質が存在することを示唆しており、このような発生ステージ依存的な制御機構に関してはさらなる遺伝学的検証の余地が残されていると考えられる。

5. まとめ

本稿では、茎頂メリステムにおける様々な生理活性物質の局在や機能について紹介した。ここでは取り上げなかったが、CLE40 や EPFL など茎頂メリステムで機能することが示唆されているペプチドホルモンも多く存在する (Uchida et al. 2013; Zhang et al. 2021; Schlegel et al. 2021)。このように、茎頂メリステムという微細な構造の中では、実に多くの生理活性物質が細胞の内外を行き交い、しかもその局在や濃度は発生ステージに応じてダイナミックに変動している。低分子の生理活性物質の検出は技術的に困難であると考えられているが、機能的な生合成酵素の局在や、シグナリングレポーターの利用、さらにタンパク質間相互作用を利用した検出系の開発など、イメージング技術を基盤としたアプローチにより、その一端が徐々に明らかになりつつある。今後も、新たな技術の開発と遺伝学的アプローチの融合により、異なる発生ステージにおける生理活性物質の挙動が明らかになると期待される。

謝辞

本稿の執筆にあたっては、JSPS 海外特別研究員奨励費、アレクサンダー・フォン・フンボルト財団、公益社団法人 内藤記念科学振興財団の助成をいただきました。この場を借りて御礼申し上げます。

引用文献

- Abe M, Kobayashi Y, Yamamoto S, Daimon Y, Yamaguchi A, Ikeda Y, Ichinoki H, Notaguchi M, Goto K, Araki T (2005) FD, a bZIP protein mediating signals from the floral pathway integrator FT at the shoot apex. *Science* 309:1052–1056. doi: 10.1126/science.1115983
- Abe M, Kosaka S, Shibuta M, Nagata K, Uemura T, Nakano A, Kaya H (2019) Transient activity of the florigen complex during the floral transition in *Arabidopsis thaliana*. *Development* 146:dev171504. doi: 10.1242/dev.171504
- Andrés F, Coupland G (2012) The genetic basis of flowering responses to seasonal cues. *Nat Rev Genet* 13:627–639. doi: 10.1038/nrg3291
- 浅見忠男, 柿本辰男 (2016) 新しい植物ホルモンの科学 第3版. 講談社, 東京
- Bao S, Hua C, Huang G, Cheng P, Gong X, Shen L, Yu H (2019) Molecular Basis of Natural Variation in Photoperiodic Flowering Responses. *Dev Cell* 50:90-101.e3. doi: 10.1016/j.devcel.2019.05.018
- Bao S, Hua C, Shen L, Yu H (2020) New insights into gibberellin signaling in regulating flowering in *Arabidopsis*. *J Integr Plant Biol* 62:118–131. doi: 10.1111/jipb.12892
- Benlloch R, Berbel A, Ali L, Gohari G, Millán T, Madueño F (2015) Genetic control of inflorescence architecture in legumes. *Front Plant Sci* 6:1–14. doi: 10.3389/fpls.2015.00543
- Betsuyaku S, Sawa S, Yamada M (2011) The Function of the CLE Peptides in Plant Development and Plant-Microbe Interactions. *The Arabidopsis Book* 2011:e0149. doi: 10.1199/tab.0149
- Bodson M (1975) Variation in the Rate of Cell Division in the Apical Meristem of *Sinapis alba* During Transition to Flowering. *Ann Bot* 39:547–554. doi: 10.1093/oxfordjournals.aob.a084965
- Bolduc N, Hake S (2009) The Maize Transcription Factor KNOTTED1 Directly Regulates the Gibberellin Catabolism Gene *ga2ox1*. *Plant Cell* 21:1647–1658. doi: 10.1105/tpc.109.068221
- Bradley D, Ratcliffe O, Vincent C, Carpenter R, Coen E (1997) Inflorescence commitment and architecture in *Arabidopsis*. *Science* 275:80–83. doi: 10.1126/science.275.5296.80
- Chen H, Banerjee AK, Hannapel DJ (2004) The tandem complex of BEL and KNOX partners is required for transcriptional repression of *ga2ox1*. *Plant J* 38:276–284. doi: 10.1111/j.1365-313x.2004.02048.x.
- Chickarmane VS, Gordon SP, Tarr PT, Heisler MG, Meyerowitz EM (2012) Cytokinin signaling as a positional cue for patterning the apical-basal axis of the growing *Arabidopsis* shoot meristem. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109:4002–4007. doi: 10.1073/pnas.1200636109
- Chung Y, Zhu Y, Wu MF, Simonini S, Kuhn A, Armenta-Medina A, Jin R, Østergaard L, Gillmor CS, Wagner D (2019) Auxin Response Factors promote organogenesis by chromatin-mediated repression of the pluripotency gene SHOOTMERISTEMLESS. *Nat Commun* 10:1–11. doi: 10.1038/s41467-019-08861-3

- Clark SE, Williams RW, Meyerowitz EM (1997) The CLAVATA1 gene encodes a putative receptor kinase that controls shoot and floral meristem size in arabidopsis. *Cell* 89:575–585. doi: 10.1016/s0092-8674(00)80239-1
- Collani S, Neumann M, Yant L, Schmid M (2019) FT Modulates Genome-Wide DNA-Binding of the bZIP Transcription Factor FD. *Plant Physiol* 180:367–380. doi: 10.1104/pp.18.01505
- Corbesier L, Vincent C, Jang S, Fornara F, Fan Q, Searle I, Giakountis A, Farrona S, Gissot L, Turnbull C et al. (2007) FT protein movement contributes to long-distance signaling in floral induction of Arabidopsis. *Science* 316:1030–1033. doi: 10.1126/science.1141752
- Daum G, Medzihradzky A, Suzaki T, Lohmann JU (2014) A mechanistic framework for noncell autonomous stem cell induction in Arabidopsis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111:14619–14624. doi: 10.1073/pnas.1406446111
- Eriksson S, Böhlenius H, Moritz T, Nilsson O (2006) GA4 Is the Active Gibberellin in the Regulation of LEAFY Transcription and Arabidopsis Floral Initiation. *Plant Cell* 18:2172–2181. doi: 10.1105/tpc.106.042317
- Fletcher JC (1999) Signaling of cell fate decisions by CLAVATA3 in Arabidopsis shoot meristems. *Science* 283:1911–1914. doi: 10.1126/science.283.5409.1911
- Galvão VC, Horrer D, Küttner F, Schmid M (2012) Spatial control of flowering by DELLA proteins in Arabidopsis thaliana. *Development* 139:4072–4082. doi: 10.1242/dev.080879
- Gifford EM (1954) The shoot apex in angiosperms. *Bot Rev* 20:477–529. doi: 10.1007/bf02957569
- Gordon SP, Chickarmane VS, Ohno C, Meyerowitz EM (2009) Multiple feedback loops through cytokinin signaling control stem cell number within the Arabidopsis shoot meristem. *Proc Natl Acad Sci* 106:16529–16534. doi: 10.1073/pnas.0908122106
- Goretti D, Silvestre M, Collani S, Langenecker T, Méndez C, Madueño F, Schmid M (2020) TERMINAL FLOWER1 Functions as a Mobile Transcriptional Cofactor in the Shoot Apical Meristem. *Plant Physiol* 182:2081–2095. doi: 10.1104/pp.19.00867
- Hay A, Kaur H, Phillips A, Hedden P, Hake S, Tsiantis M (2002) The Gibberellin Pathway Mediates KNOTTED1-Type Homeobox Function in Plants with Different Body Plans. *Curr Biol* 12:1557–1565. doi: 10.1016/s0960-9822(02)01125-9
- Jacqumard A, Gadsisseur I, Bernier G (2003) Cell Division and Morphological Changes in the Shoot Apex of Arabidopsis thaliana during Floral Transition. *Ann Bot* 91:571–576. doi: 10.1093/aob/mcg053
- Jaeger KE, Wigge PA (2007) FT Protein Acts as a Long-Range Signal in Arabidopsis. *Curr Biol* 17:1050–1054. doi: 10.1016/j.cub.2007.05.008
- Jasinski S, Piazza P, Craft J, Hay A, Woolley L, Rieu I, Phillips A, Hedden P, Tsiantis M (2005) KNOX action in Arabidopsis is mediated by coordinate regulation of cytokinin and gibberellin activities. *Curr Biol* 15:1560–1565. doi: 10.1016/j.cub.2005.07.023
- Kinoshita A, Vayssières A, Richter R, Sang Q, Roggen A, Van Driel AD, Smith RS, Coupland G (2020) Regulation of shoot meristem shape by photoperiodic signaling and phytohormones during floral induction of arabidopsis. *Elife* 9:1–29. doi: 10.7554/elife.60661
- Kondo T, Sawa S, Kinoshita A, Mizuno S, Kakimoto T, Fukuda H, Sakagami Y (2006) A plant peptide

- encoded by CLV3 identified by in situ MALDI-TOF MS analysis. *Science* 313:845–848. doi: 10.1126/science.1128439
- Kwiatkowska D (2008) Flowering and apical meristem growth dynamics. *J Exp Bot* 59:187–201. doi: 10.1093/jxb/erm290
- Laufs P, Grandjean O, Jonak C, Kiêu K, Traas J (1998) Cellular Parameters of the Shoot Apical Meristem in Arabidopsis. *Plant Cell* 10:1375–1389. doi: 10.1105/tpc.10.8.1375
- Laux T (2003) The Stem Cell Concept in Plants: A Matter of Debate. *Cell* 113:281–283. doi: 10.1016/s0092-8674(03)00312-x
- Laux T, Mayer KFX, Berger J, Jürgens G (1996) The WUSCHEL gene is required for shoot and floral meristem integrity in Arabidopsis. *Development* 122:87–96. doi: 10.1242/dev.122.1.87
- Leibfried A, To JPC, Busch W, Stehling S, Kehle A, Demar M, Kieber JJ, Lohmann JU (2005) WUSCHEL controls meristem function by direct regulation of cytokinin-inducible response regulators. *Nature* 438:1172–1175. doi: 10.1038/nature04270
- Lenhard M, Bohnert A, Jürgens G, Laux T (2001) Termination of Stem Cell Maintenance in Arabidopsis Floral Meristems by Interactions between WUSCHEL and AGAMOUS. *Cell* 105:805–814. doi: 10.1016/s0092-8674(01)00390-7
- Lindsay DL, Sawhney VK, Bonham-Smith PC (2006) Cytokinin-induced changes in CLAVATA1 and WUSCHEL expression temporally coincide with altered floral development in Arabidopsis. *Plant Sci* 170:1111–1117. doi: 10.1016/j.plantsci.2006.01.015
- Ma Y, Miotk A, Šutiković Z, Ermakova O, Wenzl C, Medzihradský A, Gaillochet C, Forner J, Utan G, Brackmann K et al. (2019) WUSCHEL acts as an auxin response rheostat to maintain apical stem cells in Arabidopsis. *Nat Commun* 10:5093. doi: 10.1038/s41467-019-13074-9
- Marc J, Palmer JH (1982) Changes in Mitotic Activity and Cell Size in the Aical Meristem of *Helianthus annuus* L. during the Transition to Flowering. *Am J Bot* 69:768–775. doi: 10.1002/j.1537-2197.1982.tb13317.x
- Mathieu J, Warthmann N, Küttner F, Schmid M (2007) Export of FT Protein from Phloem Companion Cells Is Sufficient for Floral Induction in Arabidopsis. *Curr Biol* 17:1055–1060. doi: 10.1016/j.cub.2007.05.009
- Matsubayashi Y, Sakagami Y (2006) Peptide Hormones in Plants. *Annu Rev Plant Biol* 57:649–674. doi: 10.1146/annurev.arplant.56.032604.144204
- Mayer KFX, Schoof H, Haecker A, Lenhard M, Jürgens G, Laux T (1998) Role of WUSCHEL in Regulating Stem Cell Fate in the Arabidopsis Shoot Meristem. *Cell* 95:805–815. doi: 10.1016/s0092-8674(00)81703-1
- Meng WJ, Cheng ZJ, Sang YL, Zhang MM, Rong XF, Wang ZW, Tang YY, Zhang XS (2017) Type-B ARABIDOPSIS RESPONSE REGULATORS Specify the Shoot Stem Cell Niche by Dual Regulation of WUSCHEL. *Plant Cell* 29:1357–1372. doi: 10.1105/tpc.16.00640
- Moon J, Suh SS, Lee H, Choi KR, Hong CB, Paek NC, Kim SG, Lee I (2003) The SOC1 MADS-box gene integrates vernalization and gibberellin signals for flowering in Arabidopsis. *Plant J* 35:613–623. doi: 10.1046/j.1365-313x.2003.01833.x

- Ogawa M, Shinohara H, Sakagami Y, Matsubayashi Y (2008) Arabidopsis CLV3 peptide directly binds CLV1 ectodomain. *Science* 319:294. doi: 10.1126/science.1150083
- Ohyama K, Shinohara H, Ogawa-Ohnishi M, Matsubayashi Y (2009) A glycopeptide regulating stem cell fate in Arabidopsis thaliana. *Nat Chem Biol* 2009 5:578–580. doi: 10.1038/nchembio.182
- Ormenese S, Havelange A, Bernier G, Van der Schoot C (2002) The shoot apical meristem of *Sinapis alba* L. expands its central symplasmic field during the floral transition. *Planta* 215:67–78. doi: 10.1007/s00425-002-0746-0
- Ormenese S, Havelange A, Deltour R, Bernier G (2000) The frequency of plasmodesmata increases early in the whole shoot apical meristem of *Sinapis alba* L. during floral transition. *Planta* 211:370–375. doi: 10.1007/s004250000294
- Périlleux C, Bouché F, Randoux M, Orman-Ligeza B (2019) Turning Meristems into Fortresses. *Trends Plant Sci* 24:431–442. doi: 10.1016/j.tplants.2019.02.004
- Porri A, Torti S, Romera-Branchat M, Coupland G (2012) Spatially distinct regulatory roles for gibberellins in the promotion of flowering of Arabidopsis under long photoperiods. *Development* 139:2198–2209. doi: 10.1242/dev.077164
- Pouteau S, Albertini C (2011) An assessment of morphogenetic fluctuation during reproductive phase change in Arabidopsis. *Ann Bot* 107:1017–1027. doi: 10.1093/aob/mcr039
- Przemeck GKH, Mattsson J, Hardtke CS, Sung ZR, Berleth T (1996) Studies on the role of the Arabidopsis gene MONOPTEROS in vascular development and plant cell axialization. *Planta* 200:229–237. doi: 10.1007/bf00208313
- Ratcliffe OJ, Bradley DJ, Coen ES (1999) Separation of shoot and floral identity in Arabidopsis. *Development* 126:1109–1120. doi: 10.1242/dev.126.6.1109
- Reddy GV, Heisler MG, Ehrhardt DW, Meyerowitz EM (2004) Real-time lineage analysis reveals oriented cell divisions associated with morphogenesis at the shoot apex of Arabidopsis thaliana. *Development* 131:4225–4237. doi: 10.1242/dev.01261
- Reinhardt D, Pesce ER, Stieger P, Mandel T, Baltensperger K, Bennett M, Traas J, Friml J, Kuhlemeier C (2003) Regulation of phyllotaxis by polar auxin transport. *Nature* 426:255–260. doi: 10.1038/nature02081
- Sablowski R (2007) Flowering and determinacy in Arabidopsis. *J Exp Bot* 58:899–907 doi: 10.1093/jxb/erm002
- Sakamoto T, Kamiya N, Ueguchi-Tanaka M, Iwahori S, Matsuoka M (2001a) KNOX homeodomain protein directly suppresses the expression of a gibberellin biosynthetic gene in the tobacco shoot apical meristem. *Genes Dev* 15:581. doi: 10.1101/gad.867901
- Sakamoto T, Kobayashi M, Itoh H, Tagiri A, Kayano T, Tanaka H, Iwahori S, Matsuoka M (2001b) Expression of a Gibberellin 2-Oxidase Gene around the Shoot Apex Is Related to Phase Transition in Rice. *Plant Physiol* 125:1508–1516. doi: 10.1104/pp.125.3.1508
- Schlegel J, Denay G, Wink R, Pinto KG, Stahl Y, Schmid J, Blümke P, Simon R (2021) Control of Arabidopsis shoot stem cell homeostasis by two antagonistic cle peptide signalling pathways. *Elife* 10:e70934. doi: 10.7554/elife.70934

- Schmidt A (1924) Histologische studien an phanerogamen vegetationspunkten. *Bot Arch* 8:345–404
- Shinohara H, Matsubayashi Y (2015) Reevaluation of the CLV3-receptor interaction in the shoot apical meristem: dissection of the CLV3 signaling pathway from a direct ligand-binding point of view. *Plant J* 82:328–336. doi: 10.1111/tpj.12817
- Sun B, Looi LS, Guo S, He Z, Gan ES, Huang J, Xu Y, Wee WY, Ito T (2014) Timing mechanism dependent on cell division is invoked by Polycomb eviction in plant stem cells. *Science* 343:1248559. doi: 10.1126/science.1248559
- Sun B, Xu Y, Ng KH, Ito T (2009) A timing mechanism for stem cell maintenance and differentiation in the Arabidopsis floral meristem. *Genes Dev* 23:1791–1804. doi: 10.1101/gad.1800409
- Tal L, Friedlander G, Gilboa NS, Unger T, Gilad S, Eshed Y (2017) Coordination of Meristem Doming and the Floral Transition by Late Termination, a Kelch Repeat Protein. *Plant Cell* 29:681. doi: 10.1105/tpc.17.00030
- Tamaki S, Matsuo S, Hann LW, Yokoi S, Shimamoto K (2007) Hd3a protein is a mobile flowering signal in rice. *Science* 316:1033–1036. doi: 10.1073/pnas.1417623112
- Taoka KI, Ohki I, Tsuji H, Furuita K, Hayashi K, Yanase T, Yamaguchi M, Nakashima C, Purwestri YA, Tamaki S et al. (2011) 14-3-3 proteins act as intracellular receptors for rice Hd3a florigen. *Nature* 476:332–335. doi: 10.1038/nature10272
- Uchida N, Shimada M, Tasaka M (2013) ERECTA-Family Receptor Kinases Regulate Stem Cell Homeostasis via Buffering its Cytokinin Responsiveness in the Shoot Apical Meristem. *Plant Cell Physiol* 54:343–351. doi: 10.1093/pcp/pcs109
- Vernoux T, Brunoud G, Farcot E, Morin V, van den Daele H, Legrand J, Oliva M, Das P, Larrieu A, Wells D et al. (2011) The auxin signalling network translates dynamic input into robust patterning at the shoot apex. *Mol Syst Biol* 7:508. doi: 10.1038/msb.2011.39
- Wigge PA, Kim MC, Jaeger KE, Busch W, Schmid M, Lohmann JU, Weigel D (2005) Integration of spatial and temporal information during floral induction in Arabidopsis. *Science* 309:1056–1059. doi: 10.1126/science.1114358
- Wilson RN, Heckman JW, Somerville CR (1992) Gibberellin Is Required for Flowering in Arabidopsis thaliana under Short Days. *Plant Physiol* 100:403–408. doi: 10.1104/pp.100.1.403
- Wu MF, Yamaguchi N, Xiao J, Bargmann B, Estelle M, Sang Y, Wagner D (2015) Auxin-regulated chromatin switch directs acquisition of flower primordium founder fate. *Elife* 4:e09269. doi: 10.7554/elife.09269
- Xie M, Chen H, Huang L, O’Neil RC, Shokhirev MN, Ecker JR (2018) A B-ARR-mediated cytokinin transcriptional network directs hormone cross-regulation and shoot development. *Nat Commun* 9:1–13. doi: 10.1038/s41467-018-03921-6
- Yadav RK, Perales M, Gruel J, Girke T, Jönsson H, Venugopala Reddy G (2011) WUSCHEL protein movement mediates stem cell homeostasis in the Arabidopsis shoot apex. *Genes Dev* 25:2025–2030. doi: 10.1101/gad.17258511
- Yamaguchi N, Winter CM, Wu MF, Kanno Y, Yamaguchi A, Seo M, Wagner D (2014) Gibberellin acts positively then negatively to control onset of flower formation in Arabidopsis. *Science* 344:638–

641. doi: 10.1126/science.1250498

Yamaguchi N, Wu MF, Winter CM, Berns MC, Nole-Wilson S, Yamaguchi A, Coupland G, Krizek BA, Wagner D (2013) A Molecular Framework for Auxin-Mediated Initiation of Flower Primordia. *Dev Cell* 24:271–282. doi: 10.1016/j.devcel.2012.12.017

Yanofsky MF, Ma H, Bowman JL, Drews GN, Feldmann KA, Meyerowitz EM (1990) The protein encoded by the Arabidopsis homeotic gene *agamous* resembles transcription factors. *Nature* 346:35–39. doi: 10.1038/346035a0

Zhang L, Gennaro D De, Lin G, Chai J, Shpak ED (2021) ERECTA family signaling constrains CLAVATA3 and WUSCHEL to the center of the shoot apical meristem. *Development* 148:dev189753. doi: 10.1242/dev.189753/237495

Zhao Z, Andersen SU, Ljung K, Dolezal K, Miotk A, Schultheiss SJ, Lohmann JU (2010) Hormonal control of the shoot stem-cell niche. *Nature* 465:1089–1092. doi: 10.1038/nature09126

Zhu Y, Klasfeld S, Jeong CW, Jin R, Goto K, Yamaguchi N, Wagner D (2020) TERMINAL FLOWER 1-FD complex target genes and competition with FLOWERING LOCUS T. *Nat Commun* 11:1–12. doi: 10.1038/s41467-020-18782-1