

研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名 「植物生殖成長のキープロセスを統御する分子機構の解明」

2. 研究代表者名及び主たる研究参加者名(研究機関名・職名は研究参加期間終了時点)

研究代表者

経塚 淳子 (東京大学大学院農学生命科学研究科 助教授)

主たる研究代表者

後藤 弘爾 (岡山県生物科学研究所 室長(平成12年12月～))

荒木 崇 (京都大学大学院理学部 助教授(平成12年12月～))

長戸 康郎 (東京大学大学院農学生命科学研究科 教授(平成13年9月～))

河内 孝之 (京都大学大学院生命科学研究科 教授(平成14年1月～))

田中 良和 (サントリー(株)先進技術応用研究所 主席研究員(平成15年6月～))

鈴木 英治 (秋田県立大学生物資源科学部 助教授(平成13年10月～))

3. 研究内容及び成果

3-1. 研究課題全体の研究内容

いつ花を咲かせるかは植物の生存にとって非常に重要な問題であり、多数の遺伝子のネットワークにより精密に制御されている。生殖成長への移行が決定されると、茎頂分裂組織では花や花序作りのための新たな分化プログラムが開始する。本研究課題では植物が環境の変化を感知して花成にいたる情報伝達ネットワークの主要経路を明らかにすることを目的とした。さらに花や花序の形作りを決定する機構において中心的な機能を果たす遺伝子を単離しその機能を明らかにするとともに、得られた知見の産業への応用の可能性を検討した。

3-2. 研究成果

花成の制御と花序の形成を2つの大きなテーマとし、さらに研究から得られる成果の産業への応用の可能性を探った。

花序の形成(経塚グループ;長戸グループ)については、イネ花序の形態を決定するうえで重要と考えられるプロセス、「分枝形成」「分裂組織の分化」「分裂組織アイデンティティの維持」の3過程を選定し、それぞれにおけるキー遺伝子である LAX、FZP、APO1 のクローン化、分子機能の解析を行うことにした。

花成の制御(後藤グループ;荒木グループ;河内グループ)については、シロイヌナズナ FT の機能に焦点を絞り解析を進めた。FT 相同遺伝子でありながら FT とは逆の作用を及ぼす TFL1 遺伝子および TFL2 遺伝子の解析を行い、FT の制御を通して花成の制御にかかわっているという知見を得た。さらに FT とは異なる花成経路統合遺伝子である SOC1 の制御についても解析を行った。

さらに、上記の研究から得られる成果の産業への応用(田中グループ)の可能性を探るために、得られた遺伝子をさまざまな実用園芸植物に導入し、その表現型の解析を行った。以下本研究により得られた主要成果を述べる。

経塚グループ

- 花成後の成長の制御に着目し、花序の形態を決定する要因の分子遺伝学的解析を進めた。花序の基本的形態は分枝パターンと分枝の分化により規定されるという考えのもと、これら2つを決定する機構の解明を目指した。
- 花序の分枝形成についてはLAX 遺伝子を、分枝の花芽としての分化を決定する遺伝子としてFRIZZY PANICLE (FZP)をクローニングし、分子遺伝学的解析を行なった。その結果、LAX は分枝パターンの決定ではなく、分枝として成長する腋芽形成を促進する遺伝子であることを明らかにした。
 - LAX の機能は花序(穂)形成だけではなく、イネの全成長期を通して腋芽形成に必須であることを明らかにした。したがって、イネの腋芽はその形成ステージや部位、将来の分化運命に関わらず、LAX が働く機構により制御されていることが明らかにした。
 - LAX は胚発生には関わらないことから、同じ機能を持つSAM でも、胚生か腋生かにより異なった機構により制御されていることを示した。
 - さらに、網羅的解析により、LAX の下流で働く転写因子を同定するとともに、イネの花序形成の各ステージで特異的に発現する遺伝子を同定した。
 - 一方、FZP はイネ花芽の抱葉の腋芽形成を抑制し、これにより腋芽が花芽に分化することが保障されているという仮説を提唱するにいたった。
 - 興味深いことに、LAX やFZP のオーソログと考えられる遺伝子はシロイヌナズナゲノムに存在しないが、トウモロコシゲノムには存在し、非常に保存された機能をはたしていることを明らかにした。

長戸グループ

- イネの花序(穂)発生における重要遺伝子を単離しその機能を解析することを目的とした。特に、「分裂組織アイデンティティーの維持」に的を絞り、分裂組織アイデンティティーを時間的に制御すると考えられるAPO1 遺伝子の解析を行った。
- APO1 遺伝子の解析から、APO1 がF-ボックスをもつタンパク質をコードし、シロイヌナズナUFO のオーソログであることを明らかにした。
 - apo1 変異体の表現型の詳細な観察から、APO1 は分裂組織のアイデンティティーの転換の時間的制御だけではなく、花器官ホメオティック遺伝子の発現制御や花分裂組織の有限性の獲得など、多岐にわたることを明らかにした。

荒木グループ

シロイヌナズナにおいて花成を制御する諸経路がどのように統合されて最終的に花成を引き起こすのかを明らかにする目的で、(1)FT 遺伝子の発現制御における各制御経路の統合機構の解明、(2)FT 蛋白質の生化学的機能の解明、(3)FT 遺伝子の下

流で機能する遺伝子群の同定、の3点を中心に研究を進めた。

○FT 遺伝子の発現制御における各制御経路の統合機構については、相同遺伝子である TWIN SISTER OF FT (TSF)との比較解析をおこない、維管束篩部が制御経路の統合の場であることを提唱した。

○FT 蛋白質の生化学的機能については、FTの下流で働く遺伝子として FDを同定し、FT がFD 遺伝子との蛋白質間相互作用を介して bZIP 転写因子 FDの活性を調節している可能性を明らかにした。

○FT 遺伝子の下流で機能する遺伝子群の同定：上述の FD 遺伝子と CRYPTIC PRECOCIOUS (CRP)遺伝子を同定した。FD 遺伝子に的を絞って研究を進め、FD 遺伝子が、葉において転写誘導を受けたFT 遺伝子と茎頂におけるAPETALA1 (AP1)遺伝子の転写誘導を介した花芽分裂組織形成を結びつけるリンクであることを明らかにした。

これらの研究成果は、これまで長く正体が不明であった花成ホルモン(フロリゲン)の実体の少なくとも一部が FT 遺伝子産物である可能性を強く支持するものである。

後藤グループ

花成の制御と、花序茎頂の発生制御という 2 つのテーマについて、シロイヌナズナを用いた分子遺伝学的研究によるアプローチを行った。特に日長感受性がなくなり早咲きになる、*ttf2* 突然変異体に着目し、遺伝子クローニング、分子遺伝学的解析を行った。

○*TFL2* 遺伝子はアラビドプシスゲノム上唯一の *HETEROCHROMATIN PROTEIN 1 (HP1)* ホモログをコードしているが、ヘテロクロマチン領域の遺伝子発現制御には関与せず、いくつかのユークロマチン遺伝子を特異的に抑制していることなど、クロマチン因子の既成概念を覆す成果が得られた。

○*TFL2* 遺伝子が花成遺伝子 *FT* を特異的に抑制していることから *FT* の発現解析を行い、*FT* の発現領域を明らかにした (*FT* は葉でのみ発現が見られ、茎頂では検出されない)。

○花序茎頂の発生と維持に重要な機能を持つ *TFL1* は、細胞非自律的な機能を有する。その機能発現は *TFL1* タンパク質が細胞間を移動することによることを明らかにした。

○細胞間移動に必要な十分なシグナル配列とも云うべき 20 アミノ酸領域を特定した。さらに *TFL1* のホモログである *FT* も細胞間移行能を持っていることを明らかにした。

後藤グループと荒木グループの共同研究により明らかになった、*FT* の作用領域が茎頂であることと、*FT* の発現が葉に限定され、*FT* タンパク質が細胞間移行能を持つことを考え合わせれば、植物生理学上の古くからの問題、花成シグナルの感受組織「葉」から作動組織「茎頂」への伝達機構が、分子レベルで解明できる一歩手前の地点まで到達できたと考えてよい。

河内グループ

シロイヌナズナの花成制御の分子機構を明らかにするために、MADS-box 転写因子 *AGL24* と *SVP* の機能解析を行った。

○*AGL24* と *SVP* は同じ MADS-box タンパク質と相互作用すること、花成統合遺伝子 *SOC1* を逆方向に制御することを明らかにした。

- 両者のドメインキメラ遺伝子を作成し、in vivo での機能を解析することによって、両者の機能特異性にとってそれぞれのI領域が重要であることを示した。

田中グループ

- 形態形成や開花調節に関与する植物の遺伝子を利用して新規な園芸植物を作出することを目的とした。
- APETALA3 (AP3)、 PISTILATA (PI)、 SEPARATA 3 (SEP3)(後藤グループによるクローニング)を発現させた形質転換ペチュニア形質転換体ではがく片にアントシアニンが合成され、花卉でみられるチューブ構造を形成した。このことから、シロイヌナズナ MADS-box 遺伝子はナス科植物においても葉を花卉に変換することが可能であることが分かった。
- pcyA 遺伝子(河内グループによるクローニング)を導入した形質転換ペチュニア、トレニアでは当代の形態・生育に変化は認められなかった。
- FTcDNA(荒木グループによるクローニング)を構成発現させるとペチュニアおよびトレニアの再分化が阻害された。FT 染色体遺伝子を導入したペチュニアでは生育に差は見られなかった。
- イネ LAX 遺伝子(経塚グループによるクローニング)を導入したトレニアは予想に反し節間が伸張した。LAX の構成的発現はイネではわい化を引き起こすことから、同じ遺伝子が異種植物では違う表現型をもたらすという興味深い結果が示された。

4. 事後評価結果

4-1. 外部発表(論文、口頭発表等)、特許、研究を通じての新たな知見の取得等の研究成果の状況

論文発表		招待:口頭		ポスター		報道	特許
国内	国外	国内	国外	国内	国外		
7	42	91	21	25	12	-	9

- 各々の成果は論文としてまとめられており、また論文、口頭発表ともに質・量ともレベルは高い。特にFTが花成ホルモンである可能性を示した論文は、Science 誌において‘Plant Science における Break through の成果’として取り上げられたことは特筆に値する。
- 国内出願9件と出願数としては妥当である。当該分野では獲得した遺伝子を形質の改変に応用し、実用化へ繋げることが最終目標となる。遺伝子特許を抑えておくことは重要なポイントとなる。

4-2. 成果の戦略目標・科学技術への貢献

- 総合的には、イネの花序形成及びアラビドプシスの花成制御に着目した研究の中で、生殖成長の鍵を握る主要遺伝子を数多く単離し、それら遺伝子のネットワークにおける位置づけを明らかにすることで、生殖成長の分子機構に関する理解が飛躍的に深まった。

本課題は花成にいたる複雑な情報伝達ネットワークをひとつひとつ紐解いていく作業である。ネットワークの全貌を明らかにするという意味では、道半ばにしてプロジェクトが終了した感は否めない。しかし、道半ばながらも、本プロジェクトにおいて新しい知見が数多く得られ、花成制御に関する理解は飛躍的に深まったと言え、特に花成におけるFTを中心とした成果は特筆に値する。

- 科学技術への貢献に関しては、花成ホルモンは古くからその存在が指摘されているが実体は不明のままだった。FT が葉から茎頂への花成シグナルを伝達する花成ホルモンの実体であることを強く示唆する結果を示したことは、自然科学の発展に大きく寄与する成果である。また、花成制御因子であるTFL2が Heterochromatin Protein 1 のホモログであることを明らかにし、FTを含むユークロマチン遺伝子を特異的に抑制していることを示し、クロマチンを介した遺伝子発現抑制において、植物特有と考えられる現象があることを示唆していることも評価できる。さらにイネにおいても花序形成の分子機構に関してオリジナリティーの高い研究を展開し、将来の作物生産性の向上につながる成果が得られている。当該分野は植物学の中でも近年注目され競争の激しい分野であるが、オリジナリティーの高い成果を数多く出し、世界的にみてもリーディンググループに位置づけられている。
- 今後の展開としては、情報伝達ネットワークの下流をさらに掘り下げ全貌解明へ向けて研究を進めて欲しい。FTに関しては、mRNA あるいはタンパク質がいかんして葉から茎頂に移動するのか、その分子機構を解明することが今後の大きな課題と考える。また、本課題は実験植物として位置づけられているアラビドプシスやイネを用いて得られた成果であるが、将来的には花芽や花序の形成の制御が直接経済効果に結びつく作物への応用が期待できる。たとえばイネ科作物では生産性向上のための分子育種、園芸作物では果樹の幼若期間の短縮や花きの日長感受性の打破、野菜における抽苔の制御等、農業の現場において求められている形質の改変に本成果を生かして欲しい。

4-3. その他の特記事項(受賞歴など)

- 受賞歴としては、日本植物生理学会奨励賞（荒木 崇）；2005年日本植物生理学会論文賞（後藤弘爾）の2件。
- その他、特記事項としては、FTがフロリゲンとして機能していることを示す成果を、Science 誌において、2005年における植物科学分野における“Breakthrough 成果”として取り上げられていることは、注目に値する。