

# 植物における栄養・生殖成長切換えの分子機構

## Study of Molecular Switches for the Reproductive Development in Plants (研究プロジェクト番号：JSPS-RFTF 96L00403)

プロジェクトリーダー

米田 好文 北海道大学大学院理学研究科・教授

コアメンバー

西谷 和彦 東北大学大学院生命科学研究科・教授

後藤 弘爾 岡山県生物科学総合研究所遺伝子工学研究部門・室長

荒木 崇 京都大学大学院理学研究科・助教授



### 1. 研究目的

高等真核多細胞生物において、発生分化機構の解明は最も魅力的な研究課題である。植物の発生分化は、細胞壁に囲まれた細胞が隣接細胞と接着されたまま積み上げ方式により組織・器官を構築する。本研究は、分子遺伝学的手法を用いてシロイヌナズナの生殖成長の初期過程をこのような発生分化学的な視点に立ち理解するための基礎研究を行う。シロイヌナズナの花芽形成過程を、相同器官である葉が連続的に形態変化して花芽になると捕らえる。頂端分裂組織において増殖型から生殖型への形態変化スイッチの素過程の変化に着目し、その指令に係わる遺伝子の探索・解析を通して形態変化過程を分子レベルで追究したい。シロイヌナズナは、花芽の分化と花のついている茎（花茎）の分化は遺伝的に分離できない過程である。したがって、花芽形成に伴う花茎伸長（抽台と呼ぶ）の初期過程の詳細な分子遺伝学的研究を行う。この過程の直前は、花芽を作るシグナル形成であり、本研究の進展により植物の生殖成長への変換のスイッチの研究へと肉薄し、ひいては農業的に長年の夢である生殖成長の人為的調節（即ち、開花時期などを人為的に調節する）へと道を開く研究だと捉えている。

### 2. 研究成果概要

#### 2.1 L1層特異的遺伝子の単離・解析

植物の頂端分裂組織は、L1、L2、L3 と呼ばれる三層の構造からなり、L1層特異的に発現する遺伝子を発見した。PDF2 と命名した。HD-GL2class と呼ばれるホメオドメインを持った転写因子の遺伝子があることが推定された。以前に、単離・同定していた、L1-box と呼ぶ転写のシス配列を持つ PDF1 遺伝子との相互作用が予想された。この配列と組み換え PDF2 タンパク質とのゲルシフト法での結合を同定した。したがって、L1層特異的発現遺伝子、PDF1、PDF2 は、2 が 1 の転写因子という形で相互作用して機能していることを推定した。PDF2 遺伝子を高発現する組換え遺伝子を作成して、植物に導入した。その結果、高発現植物といわゆる co-suppression=発現抑制された植物の両方が得られた。その植物は、前者が、花成遅延・表現型、後者が、花芽器官形成・不全・表現型

を示した。これらの結果は、L1層の運命決定が以後の発生特に花芽形成に大きな影響を及ぼしていることを示していると考えられる。



図1 L1-box:赤色の配列

#### 2.2 TFL 遺伝子の研究

L1.2.3 構造は茎頂、花序、花芽を通して維持されている。器官形成にはこれら三層の細胞が協調して起こる必要があり、そのためには各層をこえる細胞間コミュニケーションが必要である。これまでの研究で、栄養期分裂組織から花序分裂組織への転換およびその維持に主要な役割を果たす TERMINAL FLOWER1 (TFL1) 遺伝子は、L1-L3 層に亘る細胞間コミュニケーションに関与していると考えられる。TFL1 の転写産物と、タンパク質の局在を調べたところ、TFL1 タンパク質自身が細胞間を移動していることが明らかとなった（TFL1 の細胞非自・的作用）。tf1 突然変異のエンハンサーとして見つげられた、tf2 についても解析を進めた。tf2 突然変異体 TFL1 タンパク質の細胞間移動に直接関与していないことが明らかとなった。さらに、TFL2 の遺伝子クローニングを進めたところ、この遺伝子は、生殖成長への切り換えにかかわる遺伝子群の転写を抑制する遺伝子であることが明らかとなった。



図2 tf1 突然変異体の相補

### 2.3 FT 遺伝子の研究

切換の遺伝子、FT をクローン化し、解析した。その結果、以下の重要な発見を行った：FT 遺伝子は LFY 遺伝子と共同して、花芽誘導に機能する。その時、CO 遺伝子により、調節される。FT 遺伝子を、欠損させると花芽誘導の時期が遅れ、過剰発現させると CO 遺伝子や光周性に拘わらず花成誘導の促進が起こる。FT 遺伝子は、少なくとも部分的には、CO 遺伝子の下流で働き、相同な遺伝子 TFL1 とともに、花芽誘導のシグナル伝達の下流に位置する。

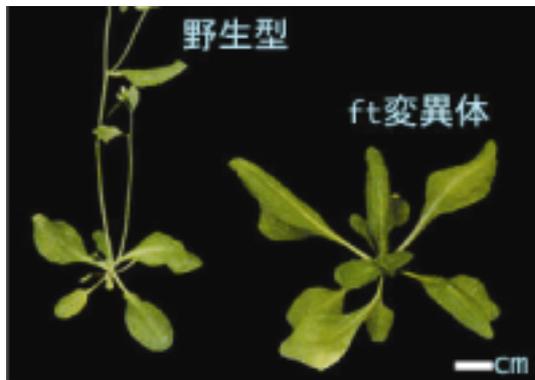


図3 ft 突然変異体

### 2.4 細胞壁構築酵素と切換え

植物細胞壁の構築に於いて中心的な役割を担うエンド型キシログルカン転移酵素群 (XRP) の役割分担に焦点を当て、栄養成長から生殖成長の切り替えの場である茎に於ける発現と機能の解析を行った。ゲノムデータベースの検索より、シロイヌナズナのゲノム上に33のXRP遺伝子を同定した。33遺伝子それぞれに特異的なプローブを用いて、real-time RT-PCR と *in situ* ハイブリダイゼーションにより発現特性を解析した。殆どのメンバーは明確な発現器官・発現細胞特異性と固有のホルモン応答性を示した。また、T-DNA タグラインより単離した EXGT-A3 欠損変異体を解析した結果、花茎の抽台時期が遅延することを明らかとなった。

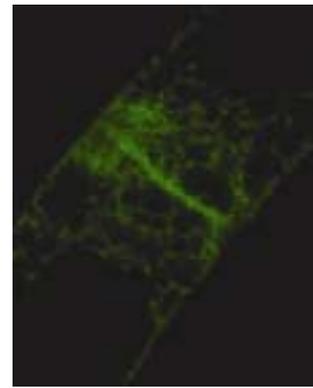


図4 EXGT-A1 遺伝子の発現領域

### 3.結論

以下の多くの新発見を行い、将来への発展の基礎を作った。

- 3.1.L1-box の発見。生殖への切換えの鍵を握る遺伝子の発見。
- 3.2.TFL2 遺伝子のクローン化と解析。
- 3.3.FT 遺伝子のクローン化と解析。
- 3.4.XRP 遺伝子群の網羅的・詳細な解析を行った。

### 主な発表論文

- (1) Hanzawa, Y., Takahashi, T. and Komeda, Y. ACL5: an Arabidopsis gene required for internodal elongation after flowering. *The Plant Journal* 12(4) : 863-874 (1997)
- (2) Hanzawa, Y., Takahashi, T., Michael, J. A., Burtin, D., Long, D., Pineiro, M., Coupland, G. and Komeda, Y. ACAULIS5, an Arabidopsis gene required for stem elongation, encodes a spermine synthase. *The EMBO Journal* 19(16) : 4248-4256 (2000)
- (3) Nishitani, K. The role of endoxyloglucan transfease in the organization of plant cell walls. *Int. Rev. of Cytology.* 173, 157-206 (1997)
- (4) Nishitani, K. Implication of xyloglucan related protein (XRP) family in regulation of plant growth and development. *Trends in Glycoscience and Glycotechnology* 9, 233-234 (1997)
- (5) Y. Kobayashi, H. Kaya, K. Goto, M. Iwabuchi, and T. Araki. A Pair of Related Genes with Antagonistic Roles in Mediating Flowering Signals. *Science* 286: 1960-1962. (1999)
- (6) Honma, T. and Goto, K. Complexes of MADS-box proteins are sufficient to convert leaves into floral organs. *Nature.* 409: 525-529. (2001)
- (7) Kaya, H., Shibahara, K., Taoka, K.-i., Iwabuchi, M., Stillman, B., and Araki, T. FASCIATA genes for chromatin assembly factor-1 in Arabidopsis maintain the cellular organization of apical meristems. *Cell* 104(1), 131-142 (2001)
- (8) Araki, T. Transition from vegetative to reproductive phase. *Current Opinion in Plant Biology* 4(1), 63-68(2001)