

「植物の機能と制御」

平成 12 年度採択研究代表者

経塚 淳子

(奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科 助教授)

「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」

1. 研究実施の概要

子孫を残すことは生物にとっての至上命令である。植物では遺伝的プログラムに則り、栄養成長から生殖成長への成長相の転換(花成)が起こる。花成により形態形成プログラムには大幅な変更が加えられ、花序形成が開始する。われわれは植物生殖成長のキープロセスである花成と花序形成に的を絞り、シロイヌナズナとイネを用い、この 2 つのプロセスを制御する分子機構を明らかにすることをめざしている。

FT は花成制御の最終段階に位置する遺伝子であり、花成における最重要遺伝子のひとつである。*FT* 機能の全貌を明らかにするために、*FT* の下流(あるいは同位)で働くと考えられる *FD*、*CRP* を単離した。また、*TFL2* 遺伝子を単離することにより、*TFL2* が転写制御に関わるヘテロクロマチン蛋白質 I をコードすること、さらに *FT* が *TFL2* の標的のひとつであることを明らかにした。このように、*FT* が働く遺伝子経路の総合的な理解にとって必要な遺伝子を単離し、それらに関する基礎的な情報を得ることができた。一方、*FT* と類似のタンパク質でありながら *FT* とは相反する機能を持つ *TFL1* について、*TFL1* タンパク質が細胞間を移動し、この細胞間移動が *TFL1* 機能にとって必須であることを明らかにした。また、*FT* および *TFL1* の生化学的機能を明らかにするために、*TFL1* と相互作用するタンパク質複合体の単離を進めている。

花序形成に関しては、イネを主な研究対象としている。これまでに、イネ花序(穂)形成において新たな分裂組織の形成に必須である *LAX* 遺伝子、および分裂組織に花芽としての運命を決定する *FZP* 遺伝子を単離することに成功した。

以上、平成 13 年度までに当初予定していた遺伝子単離を終了した。これらはいずれも花成、花序形成において中心的な役割を担っていると考えられることから、今後はこれらの機能をさまざまな手法を用いて多面的に解析することにより、生殖成長の制御に関する理解を深める。

2. 研究実施内容

個々の課題について、平成 13 年度の成果を簡潔に示した。

イネ穂の分枝決定遺伝子メカニズムの解明

ポジショナルクローニング法により *LAX* 遺伝子を同定し、*LAX* が bHLH ドメインを持つ新規な転写因子であることを明らかにした(図1)。*LAX* 遺伝子 mRNA は茎頂分裂組織中の分化領域と未分

化領域の境界部分で発現する(図 2)。

図 1

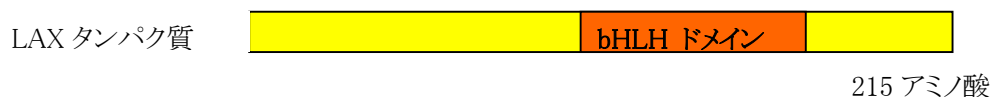


図 2

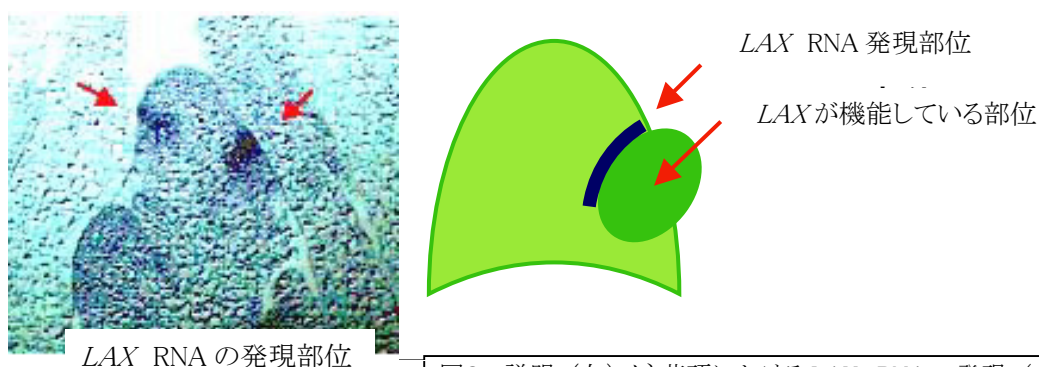


図2の説明: (左)イネ茎頂における LAXmRNA の発現。(右)変異体の表現型から LAX は新たな分裂組織形成部で機能すると思われるが、LAXmRNA は新たな分裂組織形成部の上部で発現していた。

新たに形成された分裂組織の花芽分化運命決定遺伝子である *FRIZZY PANICLE (FZP)* 遺伝子をほぼ特定した。*FZP* は EREBP ドメインを持つ転写因子であると考えられる。LAX の明らかなオーソログがシロイヌナズナゲノムには見出されないこと、また *FZP* と高い相同性を持つシロイヌナズナ遺伝子はシロイヌナズナの花芽分化には関与していないことから、イネ科植物ではシロイヌナズナとは異なる遺伝子ネットワークが花序形成を決定しているのではないかと興味深い可能性が示唆された。

FT 遺伝子の下流もしくは同位で機能する *CRP* 遺伝子群の機能解析

FT 遺伝子の過剰発現植物(早咲き)から優性の昂進変異体 *crp-1D* を単離した。*crp-1D* 変異体では栄養成長がほぼ消失している。*CRP* 遺伝子は 12 個のエクソンからなり、2355 アミノ酸残基の大きな蛋白質をコードしていた。

FT 遺伝子の下流で機能すると予想される *FD* 遺伝子の機能解析

FT 遺伝子の過剰発現植物(早咲き)の抑圧変異として *fd-1* を同定した(図3)。*FD* 遺伝子は 3 個のエクソンからなり、285 アミノ酸残基の bZIP 型転写活性化因子をコードしていた(図4)。

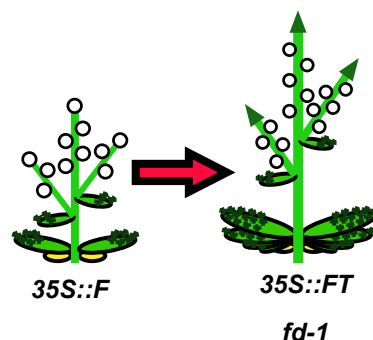


図3 *fd* 変異体単離のスキーム

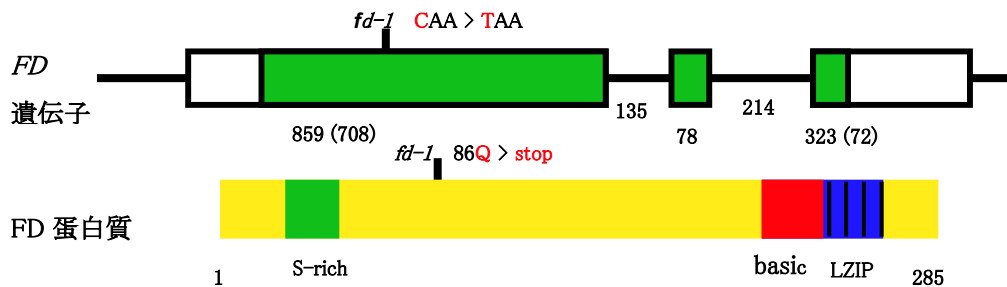


図4 *FD* 遺伝子の構造、*FD* タンパク質の構造と *fd-1* 変異体に見出された変異

TFL2 の機能の分子メカニズムの解明

平成 13 年度までの研究によって、*TFL2* 遺伝子の単離と関与する遺伝的経路を明らかにすることに成功した。遺伝子配列から予想される *TFL2* タンパク質は、ヘテロクロマチンタンパク質 (HP1) と呼ばれるもので、メチル化ヒストンと結合しクロマチン構造を変化させることによりターゲット遺伝子を不活性化すると考えられている。*TFL2* の場合も遺伝学的解析から *FT* 遺伝子がターゲットと考えられ、*TFL2* 存在下では不活性化されている。しかし *TFL2* は他の HP1 タンパク質とは性質を異にしている部分もある。

TFL1 タンパク質の細胞間移動の解析

13 年度までに、*TFL1* タンパク質に蛍光タンパク質 (GFP) を 3 個以上融合することで、*TFL1* の機能を保持したまま植物細胞間を移動できなくすることに成功した。このことから *TFL1* の細胞間移動は分子量にも依存することが分かった。

FT、*TFL1* 遺伝子と相互作用するタンパク質およびタンパク質複合体の解析

アフィニティーカラムを用いたタンパク質複合体の単離は、植物ではまだ汎用的な手法として確立されていない。昨年度は複合体検出の条件を検討し、実際に *TFL1* タンパク質と特異的に結合すると考えられる数本のバンドを特定した。

3. 研究実施体制

経塚グループ

- ① 研究分担グループ長
経塚淳子 (東京大学・農学生命科学研究科、助教授)
- ② 研究項目
花序形態を決定する分子機構の解明
 - ・ イネ穂の分枝決定遺伝子メカニズムの解明
 - ・ *FT*、*TFL1* 遺伝子と相互作用するタンパク質およびタンパク質複合体の解析

後藤グループ

- ① 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)
- ② 花序・花器官の分子形態学的解析

- ・ *TFL2*の機能の分子メカニズムの解明とターゲット遺伝子の網羅的解析
- ・ *TFL1* タンパク質の細胞間移動の解析

荒木グループ

- ① 荒木崇 (京都大学・理学系研究科、助教授)
- ② *FT*遺伝子の下流もしくは同位で機能する遺伝子群の同定と解析
 - ・ *FT*の下流もしくは同位で機能する *CRP*遺伝子群の機能解析
 - ・ *FT*遺伝子の下流で機能すると予想される *FD*遺伝子の機能解析

長戸グループ

- ① 長戸康郎 (東京大学・農学生命科学研究科、教授)
- ② イネ穂形成過程の発生遺伝学的解析

鈴木グループ

- ① 鈴木英治 (秋田県立大学・生物資源科学部、助教授)
- ② 花成に関わる遺伝子の大量シーケンシング

4. 研究成果の発表

(1) 論文発表

- Nakagawa M, Shimamoto K, and Kyojuka J. (2002). Over-expression of *RCN1* and *RCN2*, rice *TERMINAL FLOWER 1/CENTRORADIALIS* homologs confers the delay of phase transition and altered panicle morphology in rice. *Plant J.* **29**: 743-750.
- Kyojuka J, and Shimamoto K. (2002). Ectopic expression of *OsMADS3*, a rice ortholog of *AGAMOUS*, caused a homeotic transformation of lodicules to stamens in transgenic rice plants. *Plant Cell Physiol.***43**: 130-135.

総説

- Shimamoto K, Kyojuka J. (2002). Rice as a model of comparative genomics of plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **53**:

(2) 特許出願

H13 年度特許出願件数 5 (CREST 研究期間累積件数 5)

1. 国内出願 5件
2. 外国出願 なし