

「植物の機能と制御」

平成12年度採択研究代表者

経塚 淳子

(東京大学大学院農学生命科学研究科 助教授)

「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。これまで、*FT*機能の全貌を明らかにすることを目指して解析を進め、*FT*の下流で働くと考えられる*FD*を単離した。さらに、*FD*蛋白質の制御標的遺伝子の特定をすすめている。また、*FT*の発現を抑制する*TFL2*遺伝子を単離し、これが*FT*や他の標的遺伝子の発現を調節する機構の解明を進めている。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*については、その機能に必須である細胞間移行に着目し、細胞間移行を決定する20アミノ酸を同定した。さらに、*FT*および*TFL1*の生化学的機能を明らかにすることを目標として、*TFL1*と相互作用するタンパク質の単離・解析を行なっている。

今年度から、成長相の転換時に花成促進に働くMADS-box遺伝子である*AGL24*の機能解析を開始し、*AGL24*が花成経路の下流において他のMADS-box遺伝子と強調して機能する機構を明らかにした。

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*遺伝子を単離し、これらが機能する遺伝子ネットワークの解析を開始した。

以上、平成14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おり、今後これらの作用機構についてさまざまな手法を用い多面的な解析を進める。これにより生殖成長の制御に関する有意義な知見を得ることができる。さらに、これまでに得られた研究成果の産業への応用についても検討する。

2. 研究実施内容

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

花成を制御する諸経路からの情報を統合し、最終的なスイッチとして働くことが予想されるFT遺伝子の下流もしくは同位で機能する遺伝子を同定し、その機能を明らかにすることを目的として、今年度も研究をおこなった。

今年度は、昨年度にクローン化を完了したFD遺伝子の機能解析を中心に研究を進めた。酵母細胞を用いたアッセイ系で、FD蛋白質がFT蛋白質と強い相互作用をもつこと、また、TFL1蛋白質とは強い相互作用を持たないことを確認した。これにより、花成におけるFT遺伝子とTFL1遺伝子の拮抗的な作用が、少なくとも部分的にはFD蛋白質を介したものである可能性が強まった。さらに、形質転換植物を用いた実験から、FD蛋白質の活性がFT蛋白質の機能に依存することが示唆された。転写制御因子としてのFD蛋白質の重要な制御標的遺伝子の有力な候補のひとつとして、花芽形成初期に働くAPI遺伝子を特定した。

TFL1タンパク質の細胞間移行メカニズムの解明

今年度はTFL1タンパク質の細胞移行能の詳細をタンパク質側から解析するため、ドメイン毎に分割、またアミノ酸置換によって分子解剖を進めた。その結果TFL1内の20アミノ酸残基があれば、植物細胞間移行に十分であることを見いだした(特許申請中)。また同じ領域のアミノ酸を一部置換することによって、TFL1全長の持つ細胞間移行能が失われることも確認した。

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

TFL2はヘテロクロマチンタンパク質(HP1)をコードするアラビドプシスで唯一の遺伝子である。HP1はヘテロクロマチンの形成に働いて、その領域の遺伝子の発現を不活性化すると考えられている。我々は既に遺伝学的な解析からFTがTFL2によって抑制されることを見いだしていたが、これ以外にもターゲット遺伝子が存在すると考え、マイクロアレイによる網羅的解析を行った。その結果、花のホメオティック遺伝子、PI、AP3、AG、SEP3が新たにターゲットとして同定された。その一方で、HP1が深く関与すると予想されたヘテロクロマチン領域の遺伝子発現には影響が見られなかった(論文印刷中)。

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

いまだ解明されていないFT/TFL1タンパク質の生化学的な機能を明らかにするために、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を試み、AG04と複数の14-3-3タンパク質を単離した。AG04は遺伝子発現のエピジェネティックな調節に関わると報告されている点に着目して研究を進める。14-3-3は酵母ツーハイブリッド法によっても単離されることから、本手法の妥当性が確かめられた。

成長相の転換時に作用するMADSボックスタンパク質遺伝子群の機能解析

シロイヌナズナの花成促進に働くMADS-boxタンパク質AGL24の作用機構を解明するために、AGL24と相互作用するタンパク質の単離と評価を進めた。酵母のTwo-hybridスクリーニングを行った結果、栄養成長期地上部由来のライブラリーからSOC1が、花序由来のライブラリーからAP1、FUL、AP3、SEP2、SEP3、AGが得られた。AGL24は栄養成長期の茎頂分裂

組織と花序分裂組織で主に発現していることから、栄養成長期茎頂においてはSOC1と、花序茎頂においてはAP1ならびにFULと相互作用する可能性が考えられた。SOC1は花成制御経路の下流において、花成促進に働くことが知られている。また、APIとの遺伝学的な解析を行った結果、*ap1*変異はAGL24過剰発現による花成促進を抑制したことから、AGL24による花成促進にはAPIが必要であることが明らかとなった。以上の結果から、AGL24は花成経路の下流において、SOC1と協調的に複合体を形成し、APIを介して花成促進に働くことが示唆された。

イネ穂の分枝決定遺伝子メカニズムの解明

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遺伝子を単離し、これらが機能する遺伝子ネットワークの解析を開始した。さらに、穂分枝に関する変異体から、*lax*変異体との2重変異体で、イネの分枝がすべて抑制される*small panicle (spa)*変異体を見出した。SPAとLAXの相互作用を分子レベルで解析することにより、イネ穂分枝制御機構をネットワークとして理解することができると期待される。

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：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研究分担グループ長：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研究項目：TFL1タンパク質の細胞間移行メカニズムの解明

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

荒木グループ

①研究分担グループ長：荒木崇（京都大学・理学系研究科、助教授）

②研究項目：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研究分担グループ長：長戸康郎（東京大学・農学生命科学研究科、教授）

②研究項目：イネ穂形成過程の発生遺伝学的解析

河内グループ

①研究分担グループ長：河内孝之（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）

②研究項目：生長相の転換時に作用するMADSボックスタンパク質遺伝子群の機能解析

鈴木グループ

①研究分担グループ長：鈴木英治（秋田県立大学・生物資源科学部、助教授）

②研究項目：生殖成長に関わる遺伝子の大量シーケンシング

4. 主な研究成果の発表（論文発表および特許出願）

(1) 論文（原著論文）発表

- Kyojuka J and Shimamoto K
Ectopic expression of *RAG*, a rice ortholog of *AGAMOUS*, caused a homeotic transformation of lodicules to stamens in transgenic rice plants.
Plant Cell Physiol. **43**:130-135 (2002)
- Nakagawa M, Shimamoto K and Kyojuka J
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 (2002)
- Shimamoto K and Kyojuka J
Rice as a model of comparative genomics of plants.
Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology **53**:399-419 (2002) (review)
- Muramoto T, Tsurui N, Terry, M J, Yokota A and Kohchi T
Expression and biochemical properties of a ferredoxin-dependent heme oxygenase required for phytochrome chromophore synthesis.
Plant Physiol. **130**: 1958-1966 (2002)
- Terry, M. J., Linley, P. J., Kohchi, T.
Making light of it: the role of plant haem oxygenase in phytochrome chromophore synthesis. *Biochem.*
Soc. Trans. **30**: 604-609 (2002)
- Kanamoto H, Hattan J, Takemura M, Yokota A and Kohchi T
Molecular cloning for a putative receptor-like protein kinase with a leucine-rich repeat expressed in inflorescence and root apices from *Arabidopsis*.
Plant Biotech. **19**: 113-120 (2002)
- Ahn B. O, Miyoshi K, Itoh JI, Nagato Y and Kurata N
A genetic and physical map of the region containing *PLASTOCHRON 1*, a heterochronic gene, in rice (*Oryza sativa* L.)
Theor. Appl. Genet. **105**: 654-659. (2002)

- Satoh, N., Itoh, J.-I. and Nagato, Y.
The *SHOOTLESS2* and *SHOOTLESS1* genes are involved in both the initiation and maintenance of the shoot apical meristem through regulating the number of indeterminate cells .
***Genetics* 164:** 335-346(2003)
- Nagasawa N, Miyoshi M, Sano Y, Satoh H and Nagato Y
SUPERWOMAN 1 and *DROOPING LEAF* genes control floral organ identity in rice.
***Development* 130:**705-718. (2003)
- Asai, K., Satoh, N., Sasaki, H., Satoh, H. and Nagato, Y.
A rice *heterochronic* mutant, *moril*, is defective in the juvenile-adult phase change.
***Development* 129:**265-273. (2002)
- Miyoshi K, Kagaya Y, Ogawa Y, Nagato Y and Hattori T
Temporal and *spatial* expression pattern of the *OSVPI* and *OSEM* genes during seed development in rice.
***Plant Cell Physiol.* 43:**307-313 (2002)
- Yamaki S and Nagato Y
OVULELESS gene regulates *the* initial step of ovule development.
***Rice Genet. Newsllett.* 19:**33-35. (2002)
- Obara MK, Hayashida EH, Satoh H and Nagato Y
ADAXIAL SNOWY LEAF gene required *for* the chloroplast development in adaxial mesophyll cells.
***Rice Genet. Newsllett.* 19:**36-38. (2002)
- Ikeda K, Nagasawa N and Nagato Y
ABERRANT PANICLE ORGANIZATION 1 gene *regulates* the meristem organization in rice.
***Rice Genet. Newsllett.* 19:**42-45. (2002)
- 長戸康郎、伊藤純一
イネにおける胚発生の制御機構。
岡田清孝ら編 植物の形づくり-遺伝子から見た分子メカニズム。
蛋白質 核酸 酵素47 : 1524-1529. (2002) (総説)
- 経塚淳子
花序分裂組織。
岡田清孝ら編 植物の形づくり-遺伝子から見た分子メカニズム。
蛋白質 核酸 酵素47 : 1547-1552. (2002) (総説)
- 荒木 崇
長日植物における花成制御-理解の現状と未解決の課題。

岡田清孝ら編 植物の形づくり-遺伝子から見た分子メカニズム.
蛋白質 核酸 酵素47 : 1535-1540. (2002) (総説)

○ 後藤弘爾

花を形作る遺伝子.

岡田清孝ら編 植物の形づくり-遺伝子から見た分子メカニズム.
蛋白質 核酸 酵素47 : 1552-1556. (2002) (総説)

(2) 特許出願

H14年度特許出願件数 : 3 件 (研究期間累積件数 : 8件)