

「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

植物では栄養成長から生殖成長への移行（花成）にともない、成長プログラムが大きく変化し、これまで葉を形成していた茎頂分裂組織は花あるいは花序分枝の形成を開始する。本研究では花成の実体を明らかにすることを最終目標として、花成を引き起こす機構と花成により誘導される成長プログラムの変化を決定する分子機構の理解を深めることをめざす。具体的には、花成を制御する諸経路を統合すると考えられるFT遺伝子の機能を遺伝学および生化学的な解明、FTの相同遺伝子でありながらFTと拮抗的に機能し、さらに花序形態の決定にも主要な役割を果たすTFL1遺伝子の解析を進める。さらに、花成が成長プログラムの変化を引き起こす機構の解明のために、イネ穂の分枝を決定する遺伝子の機能を解析する。平成12年度はこれらの課題を遂行するための研究材料の準備、パイロット実験を中心に研究を進めた。解析対象と考える遺伝子のうち、FTの下流で機能すると考えられるCRP、花成の制御に関わるTFL2、イネ穂分枝決定遺伝子LAX遺伝子に関しては平成12年度に遺伝子単離をほぼ終了することができた。今後はこれらの機能解析を中心に研究を進める。

2. 研究実施内容

植物では栄養成長から生殖成長への移行（花成）にともない、成長プログラムが大きく変化し、これまで葉を形成していた茎頂分裂組織は花あるいは花序分枝の形成を開始する。本研究では花成の実体を明らかにすることを最終目標として、花成を引き起こす機構と、花成が成長プログラムの変化を引き起こす機構を分子生物学的に解明することをめざす。

(i) 花成を引き起こす分子機構の解析

FT遺伝子

FT遺伝子は複数の花成制御経路が統合される段階に位置づけられる遺伝子であり、FT過剰過剰発現体は日長にかかわらず早咲きとなる。そこで、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、③FT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、平成12年度は、そのための研究材料の整備・パイロット実験を進めた。このうち③FT遺伝子の下流で機能する遺伝子群の同定に関しては、FD遺伝子が最も有望な候補遺伝子であることを見出し、ポジショナル・クローニングを進めている。また、③と関連する課題として、新たに「FT遺伝子と協調的に機能する遺伝子群の同定」を考え、その候補となる遺伝子の突然変異体の単離を開始した。これまでに得られた半優性の突然変異が新奇の遺伝子座の突然変異であることが判明し、遺伝子座をCRYPTIC PRECOCIOUS1(CRP)と名付けた。高精度マッピングにより、CRP遺伝子座の座乗領域を第4染色体の約30kbの領域に限定し、その範囲に予測される遺伝子の一つにアミノ酸置換を伴う1塩基の置換を見いだした。

TFL2遺伝子

*tfl1*変異の昂進変異として報告されていた*tfl2*突然変異体の表現形の詳細な遺伝学的解析を行い、TFL2遺伝子は花序形態だけではなく、花成の制御に参与していることを明らかにした。さらにTFL2遺伝子を単離し、TFL2がポリコーム遺伝子の一員であることを発見した。ポリコームタンパク質は他のタンパク質と複合体を形成し、転写抑制因子として働くことが知られている。今後は、TFL2遺伝子が花成のどの経路に参与しているかを分子遺伝学的に明らかにするとともに、TFL2の作るポリコーム複合体を生化学的に明らかにしていく。

(ii) 花成が成長プログラムの変化を引き起こす分子機構の解析

生殖成長への移行はかたち作りの新たなプログラムを開始させ、花序形成が開始する。成長プログラムの変化、すなわち花序形成の開始については、イネ穂(花序)の分枝を決定する遺伝子とシロイヌナズナで花序形態の決定に主要な役割を果たすTFL1遺伝子の機能を解析する。

TFL1遺伝子

これまでに、TFL1タンパク質が細胞間移行能を持ち、茎頂の発生時期特異的に主に花序茎頂細胞間を移動することが明らかになっていた。TFL1の細胞間移行はTFL1が機能するために必須であり、成長プログラムの変化に関わる何らかの細胞間コミュニケーションに携わっていると考えられる。今後はTFL1タンパク質の細胞間移動に必要なドメインを検索する予定であり、今年度はこのための準備を整えた。さらに、この解析を進めるとともに、細胞間移動に必要とされる植物細胞側の要因の解析を進める。

また、TFL1のイネ相同遺伝子であるRCN1およびRCN2を構成的プロモーターで発現させることにより、イネの各生育ステージが延長されることを見いだした。この結果、RCN過剰発現植物体では、遅咲き、イネ穂(花序)分枝の増加などの

穂形態の変化が観察された。この効果はシロイヌナズナ *TFL1* をシロイヌナズナで過剰発現させた場合と類似しており、生育ステージの進行に関して、イネとシロイヌナズナで保存された機構が働いていることを示唆する。

イネ穂形成遺伝子、*LAX*、*FZP*

花成によりイネは穂の形成を開始するが、その最初のステップは、分枝形成、すなわち、側生分裂組織 (Axillary Meristem) の形成である。本研究では側生分裂組織の形成と分化を決定する分子機構を理解するために、穂の分枝が著しく抑制される *lax* 変異体と、花芽が形成されず分枝を繰り返す *frizzy panicle* (*fzp*) 変異体を用いて、これらの原因遺伝子を単離し、その機能解析を行う。

平成12年度は *LAX* 遺伝子座の高精度マッピングを行い、*LAX* 遺伝子座の存在を第1染色体長腕部140CM周辺約80kbの領域に特定した。今後、変異体と野生型の配列を比較することにより、*LAX* 候補遺伝子を特定し、その機能解析等を開始する。

fzp 変異体は1994年にアメリカのグループにより初めて記載されたイネ穂形態に関する変異体である。新たに *fzp* 様変異体2系統 (*fzp-k*、*fzp-m*) を得、これらが *fzp* とアレリックであることを確認した。3世代、67個体を用いた連鎖解析から、*fzp-k* はトランスポゾン *Ac*、*fzp-m* はレトロトランスポゾンの挿入により引き起こされた変異体であることが強く示唆された。そこで、平成12年度は *FZP* 遺伝子の候補領域として、トランスポゾン挿入部位の周辺約10kbを単離した。現在、この領域を用いて *fzp* 変異の相補試験を行っている。*Fzp-m* に挿入されていたレトロトランスポゾンは、植物では初めて見つかった転移活性を持つLINE型レトロトランスポゾンであり、今後イネ遺伝子の機能解析に広く利用されるものと期待される。

3. 主な研究成果の発表 (論文発表)

Mai Komatsu, Masahiko Maekawa, Ko Shimamoto, and Junko Kyozuka

The *LAX1* and *FRIZZY PANICLE 2* genes determine the inflorescence architecture of rice by controlling rachis-branch and spikelet development

Developmental Biology

第231巻 364-373頁

2001年

J. Kyozuka, T. Kobayashi, M. Morita, K. Shimamoto

Spatially and temporally regulated expression of rice MADS box genes with similarity to *Arabidopsis* class A, B, C genes.

Plant Cell Physiology誌

第41巻6号(2000年6月)710-718頁

2000年

T. Honma, and K. Goto

Complexes of MADS-box proteins are sufficient to convert leaves into floral organs.

Nature.

第409巻 525-529頁

2001年

N. Minida, K. Goto, Y. Kobayashi, T. Araki, J. H. Ahn, D. Weigel, M. Murata, F. Motoyoshi, and W. Sakamoto.

Functional divergence of the TFL 1 -like gene family in Arabidopsis revealed by characterization of a novel homologue.

Genes to Cells.

第 6 巻 327-336頁

2001年

Takashi Araki

Transition from vegetative to reproductive phase.

Current Opinion in Plant Biology誌

第 4 巻 1 号(2001年 2 月)63-68頁

2001年

Hidetaka Kaya, Kei-ichi Shibahara, Ken-ichiro Taoka, Masaki Iwabuchi, Bruce Stillman, Takashi Araki

FASCIATA genes for chromatin assembly factor-1 in *Arabidopsis* maintain the cellular organization of apical meristems.

Cell誌

第104巻 1 号(2001年 1 月12 日)131-142頁

2001年

Hidetaka Kaya, Shusei Sato, Satoshi Tabata, Yasushi Kobayashi, Masaki Iwabuchi, Takashi Araki

hosoba toge toge, a syndrome caused by a large chromosomal deletion associated with a T-DNA insertion in Arabidopsis.

Plant Cell Physiology誌

第41巻 9 号(2000年 9 月)1055-1066頁

2000年

投稿日はH12年 6 月 6 日(H12年 7 月 6 日に改訂稿を送り受理)