

研究報告書

「花芽形成の遺伝子制御ネットワーク：一斉開花結実現象を分子レベルから解明する」

研究期間：平成 20 年 10 月～平成 24 年 3 月

研究者：佐竹 暁子

1, 研究のねらい

多くの植物種では、開花量や種子量が著しく年変動し、個体間(ときには植物種間)で同調することが知られています。これは一斉開花結実現象とよばれ、古くから生態学者の興味を惹いてきました。現在、地球規模の環境変化によって一斉開花結実様式が変化し、その変化が動物との相互作用や植物間の競争を介して、森林生態系の維持に大きな影響を及ぼす可能性が指摘されています。こうしたマクロスケールの現象が注目される一方で、近年、シロイヌナズナやイネをモデル植物として、開花時期制御機構の分子レベルでの解明が飛躍的に進んできました。その結果、気温・乾燥ストレス・光などの環境要因が、開花遺伝子の発現を制御し開花時期を左右する仕組みが次々と明らかになってきています。

本研究では、複雑な開花遺伝子ネットワークの本質を抽出した数理モデルを構築し、一斉開花結実現象を対象にして、環境変化—開花遺伝子制御様式の変化—開花・結実フェノロジーの変化、という一連のプロセスを予測し、環境変化への生態系の応答を理論的に理解する基盤を与えることをねらいとしています。

2, 研究成果

(1) ブナにおける豊凶現象：窒素資源による花芽分化制御

ブナは顕著な豊凶を示す典型的な一斉開花種であり、豊凶現象のメカニズムを明らかにするにあたり絶好の材料です。以前より養分量の変動によって開花や種子量の豊凶が生み出されることが理論的に指摘されてきましたが、花芽分化に養分量が影響していることを示した報告はこれまでありません。そこで本テーマではブナにおいて花芽分化と養分量の関係を、花芽分裂組織決定遺伝子の一つである *LEAFY(LFY)* の発現量で調べることで明らかにしました。シロイヌナズナでは、*LFY* 遺伝子を強制発現させることで、本来は花序(側枝)に分化するはずの分裂組織を花芽に分化させることができるため、*LFY* 遺伝子は「花芽分化のスイッチ」と呼ばれています。ブナにおいて *LFY* 相同遺伝子を同定したところ、シロイヌナズナ *LFY* とアミノ酸レベルで約 90% の相同性があり非常に良く保存されていることがわかりました。私達はこれを *FcLFY* と名付けました。

北海道羊ヶ丘と黒松内にある 2 調査地において、芽における *FcLFY* 相対発現量を 2009～2010 年の二年間(冬期を除く)にわたりリアルタイム定量 PCR によってモニタリングし、翌年春の開花量と照らし合わせたところ、非常に強い正の相関があることが明らかになりました。当年枝における窒素濃度および非構造体糖類濃度と *FcLFY* 相対発現量の関係を調べたところ、窒素濃度とは顕著な正の相関があるものの、非構造体糖類濃度とはいかなる関係性も見いだす事ができませんでした。このことは、ブナにおいて窒素資源が花芽分化に影響を及ぼす可能性を示唆しています。

そこで私達は、遺伝的背景が同一の接木ブナを用いて窒素肥料の施肥実験を実施した結果、

*FcLFY*の発現が著しく高まることが示されました(図1:未発表)。*LFY*と正のフィードバック関係にあり、花弁やがくの正常な発生に関与することで知られる *APETALA1(AP1)*のブナ相同遺伝子(*FcAP1*)も顕著な発現量上昇を示しました。芽の形態観察を行うと、施肥処理された個体からは多くの花器官が観察されたのに対し、コントロールではいっさい花器官は見つかりませんでした。以上のことから、窒素資源によって花芽分化が制御されることが明らかになりました。

これらの結果は、従来理論的に指摘されてきた養分量の花芽分化への影響を裏付ける貴重なデータを提供するものであります。

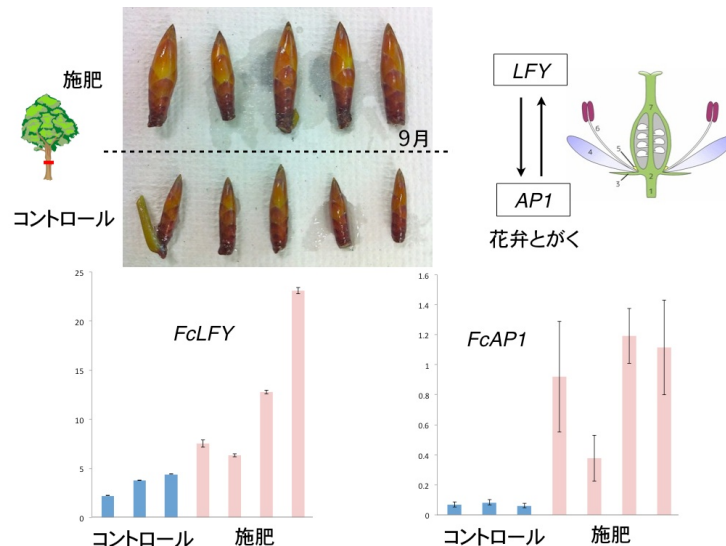


図 1: 施肥実験結果

(2) 冬の記憶: 花成抑制遺伝子 *FLOWERING LOCUS C* のエピジェネティックな制御

植物は、日照時間や温度などの環境変化に応答することで適した季節に花を咲かせます。シロイヌナズナにおいて *FLC* は、低温シグナルへの応答において中心的役割を果たしています。一般に、花成抑制遺伝子である *FLC* の発現量は、夏期の高温状態では高く開花が抑制されていますが、冬期に長期間の低温を経験することによって緩やかに低下し、春先に花成が誘導されます。*FLC* の発現は、ヒストンのメチル化やアセチル化などのエピジェネティックなメカニズムによって制御されていますが、この仕組みによって春の気温上昇後にも発現量を低く維持し、冬期の長期記憶として細胞分裂後も安定に引き継ぐことを可能にすると考えられています。しかし、この安定的な発現抑制を可能にするヒストン修飾ダイナミクスは未だによくわかっていません。

本テーマでは、*FLC* 遺伝子座におけるヒストン修飾ダイナミクスを捉えた数理モデルによって、各細胞レベルで *FLC* 転写の抑制状態と活性化状態が力学的に双安定となることが、細胞集団レベルでの安定的な発現抑制に必須であることを示しました (Satake and Iwasa 2012)。低温シグナルの受容に伴い活性的修飾から抑制的修飾状態への遷移が始まると仮定すると、低温条件のもとで細胞レベルでは短期間で発現量の低下が生じますが、タイミングが細胞間で異なるため、細胞集団では長期にわたり緩やかに低下することが明らかになりました。さらに、抑制的修飾を行う酵素活性が高まると、低温処理後、気温が上昇した環境においても発現抑制は安定的に維持されました。このことは、抑制的修飾を行う酵素活性に応じて、冬の記憶の持続期間が変化することを意味しており、安定して *FLC* が抑制される一年草と一過的な *FLC* 抑制をみせる多年草と

をわける鍵となることを示唆しています。

(3) 植物における生活史の多様性：春化経路制御の視点から

一年草と多年草の適応的意義については、古くから最適制御理論などの数理モデルによって研究されてきました。本テーマでは特に、春化応答において中心的役割を果たす花成抑制遺伝子 *FLOWERING LOCUS C (FLC)* の発現制御ダイナミクスと、光合成による炭水化物資源の蓄積と繁殖への配分の両者を考慮した数理モデルを用いて、植物における生活史の多様性について理論的考察を行いました。長期低温によって *FLC* の発現が抑制されることで、花成誘導因子である *FLOWERING LOCUS T (FT)* の発現が促され花芽形成が始まるプロセスを定式化しました。そして花芽形成が始まると、貯蔵資源の配分によって繁殖器官が生産され、貯蔵資源を使い切った時点で植物は枯死すると仮定しました。

FLC の発現制御の調節によって 4通りの開花様式が予測されました。1) *FLC* の発現が一度抑制されると回復しない場合には、一年草；2) 発現が回復せずかつ緩やかに抑制される場合には、一回繁殖型多年草；3) 発現が回復可能な場合には、毎年繁殖型多年草；4) 発現が回復可能かつ緩やかに抑制される場合には、間欠的繁殖型多年草の挙動が示されました。生涯繁殖成功度に基づき進化的に有利な開花様式を推定すると、死亡率の増加に伴い間欠的繁殖型多年草、毎年繁殖型多年草、一年草へ連続的に遷移することがわかりました (Satake 2010)。これらの結果は、*FLC* 発現制御の相違が、開花様式の多様性を生じる可能性を示唆するものです。

(4) 多年生草本ハクサンハタザオにおける開花時期制御メカニズム：

多年生草本ハクサンハタザオは、シロイヌナズナと近縁種であるためモデル植物で蓄積されたゲノム情報を容易に応用可能であり、植物システム全体をモデル化するにあたり理想的な材料です。また、北海道から西日本まで幅広い分布を示すことから、本植物を対象にすることで、異なる環境への進化適応メカニズムも明らかにすることが可能となります。本テーマでは多年生草本ハクサンハタザオを対象に、異なる温度環境に対する開花時期調節メカニズムを、温度操作実験、開花遺伝子発現量の時系列データ解析、および数理モデルにより明らかにしました。

北海道と兵庫個体群から採取した植物体を対象に、複数の開花遺伝子の発現パターンを異なる温度制御条件 (5, 10, 20°C) で約1年間モニタリングした結果、北海道と兵庫個体群の間には *FLC* と花成ホルモンをコードする *FLOWERING LOCUS T (FT)* の温度応答に顕著な相違があることがわかりました。低温処理後の *FLC* 発現量の上昇速度は函館個体群のほうが遅く、冬の記憶が長期間維持されることがわかりました。また、低温になるほど *FT* 発現タイミングが遅れ、そのことは開花時期の遅延と強い相関を持つことが示されました (図2: 未発表)。兵庫個体群はどの温度条件においても、北海道個体群より遅く開花し、5 条件では6週間以上の開花遅延が観察されました。このことは、*FT* 発現量ピークの遅延によって非常に良く説明できます。

FLC、*FT*、および日長応答で主要な役割を果たす *CONSTANS (CO)* の挙動を微分方程式モデルによって記述し、室内実験で得られたデータより推定された温度応答関数をあてはめることから、自然条件における開花時期予測を行いました。種子数で評価される生涯繁殖成功度を最大にする日長応答関数も同時に予測した結果、兵庫個体群は北海道個体群より1時間程度長い限界日長にตอบสนองすることが予測されました。また、同じ温度環境であれば兵庫個体群の開花時期は北海道個体群と同様であるが、開花終了時期が顕著に早まるという予測を得ました。

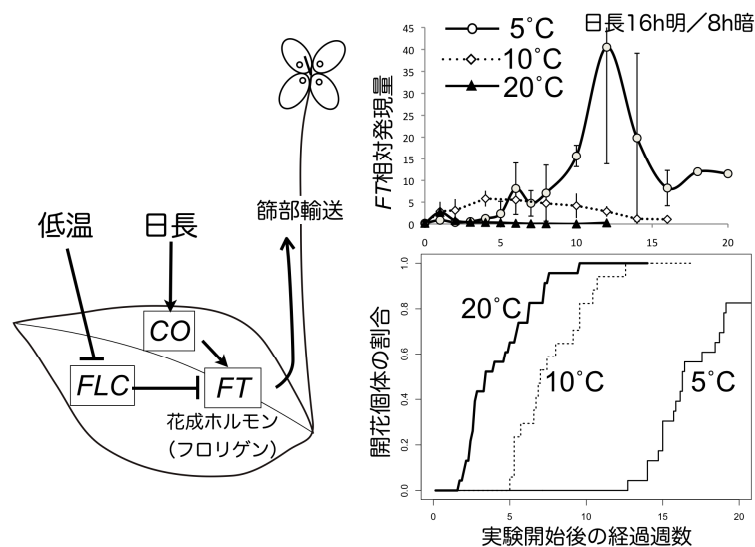


図2 ハクサンハタザオにおける花成：温度と日長応答

3, 今後の展開

今後は、これまでの成果をもとに以下の研究を進めていきます。ブナにおいては、いかなる形態の窒素分が開花遺伝子を制御しているのか更なる分析を進めるとともに、外的環境要因として非常に重要な役割を果たす温度が花芽分化に与える影響を、野外温度操作実験によって明らかにします。また、窒素濃度がどのような年変動を示すのかを明らかにするために、長期間のモニタリングを継続的に行います。施肥によって *FcLFY*、*FcAP1* 以外の遺伝子がどのように変化するかを調べるために、網羅的遺伝子発現解析も予定しています。ハクサンハタザオにおいては、温度応答に加え日長応答も明らかにし、本研究で得られた理論的予測の妥当性を実験によって検証します。理論的予測を相互移植実験によって確かめる試みも実施しています。

4, 自己評価

当初計画していた通りに研究が進まず目標の 50%も達成できませんでしたが、さきがけがなければ挑戦できない課題に取り組むことができたことは、今後の私の研究人生にとって大変貴重な経験となりました。さきがけで取り組んだ研究が将来実を結ぶよう、そして研究面において豊作を実現できるよう、今後一層精進してまいります。

5, 研究総括の見解

植物の一斉開花結実現象に焦点を当て、ブナ科・アブラナ科植物から得られた遺伝子レベルの実験的知見と種内・種間の同調開花に関する生態学的知見を、数理モデルを介して統合し、栄養塩、気温・光などの環境要因が開花や結実時期に及ぼす影響を明らかにするという壮大で意欲的な課題に取り組んだ。研究者が自らデザインした実験を基に、冬の記憶を持続させる開花抑制遺伝子 *FLC* のエピジェネティックな制御モデル、一年生か多年生かの開花様式を説明する最適制御モデル、開花時期の日長と温度に対する応答関数の導出などで優れた成果を上げた。

当初の目的に向かって地道に粘り強く研究を突き進める態度には圧倒されるものがある。この分野でリーダーを目指せる研究者であり、一層の進展を期待したい。

6, 主な研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表

- | |
|--|
| 1. Satake A, Iwasa Y (2012) A stochastic model of chromatin modification: Cell population coding of winter memory in plants. <i>Journal of Theoretical Biology</i> (in press). |
| 2. Tachiki, Y, Iwasa Y, <u>Satake A</u> (2010) Pollinator coupling can induce synchronized flowering in different plant species. <i>Journal of Theoretical Biology</i> 267, 153-163. |
| 3. <u>Satake, A</u> (2010) Diversity of plant life cycles is generated by dynamic epigenetic regulation in response to vernalization. <i>Journal of Theoretical Biology</i> 226, 595-605. |
| 4. Aikawa, S, Kobayashi MJ, <u>Satake A</u> , Shimizu KK, Kudoh H (2010) Robust control of the seasonal expression of the <i>Arabidopsis FLC</i> gene in a fluctuating environment. <i>Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America</i> 107, 11632-11637. |
| 5. |

(2) 特許出願

研究期間累積件数: 0 件

(3) その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物等)

- (1) 2011 年 6 月 European Conference on Mathematical and Theoretical Biology; “A computational model of plant life cycle: Genetic mechanism of local adaptation in flowering time”; Krakow, Poland.
- (2) 2010 年 9 月 Temasek Life Sciences Laboratory seminar; “Reversible or Irreversible?: Modelling epigenetic regulation of *FLOWERING LOCUS C*”; National University of Singapore, Singapore.
- (3) 2009 年 11 月 University of Zürich Plant Science seminar; “A computational model of plant life cycle: Chromatin modification at *FLOWERING LOCUS C* and regulation of resource allocation contribute to control annual and perennial traits”; University of Zürich, Switzerland.
- (4) 2009 年 9 月 Systems Biology Conference; “A computational model of plant life cycle: Chromatin modification at *FLOWERING LOCUS C* and regulation of resource allocation contribute to control annual and perennial traits”; Stanford University, USA.