

令和 4 年 5 月 13 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K06703

研究課題名(和文) 茎頂メリステムにおけるフロリゲン輸送と内部環境変動の分子的理解

研究課題名(英文) Molecular analysis of florigen transport in shoot apical meristem

研究代表者

阿部 光知 (Abe, Mitsutomo)

東京大学・大学院総合文化研究科・教授

研究者番号：20343238

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：植物は、多様な環境情報を用いて成長や繁殖の最適化を行なっている。花成ホルモン・フロリゲン (FTタンパク質) は、花を咲かせる環境下の葉で作られ、茎頂メリステムへと運ばれ、FDとフロリゲン複合体 (FT-FD複合体) を形成する。本研究課題では、「FTタンパク質」と「茎頂メリステムの環境」の双方に注目し、フロリゲンの輸送機構の分子的理解を目指す。独自の *in vivo* フロリゲン複合体 (FT-FD複合体) 可視化手法を活用し、細胞間輸送に重要なFTのアミノ酸配列を同定し、原形質連絡のFT輸送への関与を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

FTを介した花成制御機構の大枠において、「葉でFTが産生される過程」「茎頂でのFT-FD複合体の形成過程」に関する理解に比べ、「葉から茎頂部へとFTが輸送される過程」の分子的理解は極めて乏しい状況にある。その要因の一つに、FT輸送を評価する技術的な困難さが挙げられる。申請者が活用する *in vivo* 可視化手法は、既存の問題点を克服した独自の実験手法であり、篩部から茎頂までのFT輸送を初めて評価可能にした。本課題によってFT輸送過程に対する分子的理解が飛躍的に高まることによって、フロリゲンを介した花成制御機構の包括的理解に向けての基盤となることが見込まれる。

研究成果の概要(英文)：Plants use a variety of environmental and endogenous information to optimize growth and reproduction. In *Arabidopsis thaliana*, floral stimulus (FT protein) is produced in leaves under long-day conditions and transported to the shoot apical meristem to form the FT-FD complex. In this project, we focused on both "FT protein" and "environment of shoot apical meristem" to gain a molecular understanding of florigen transport. Using an *in vivo* imaging technique of the FT-FD complex in shoot apical meristem, we identified the amino acid sequence of FT, which is important for FT transport, and showed the involvement of plasmodesmata in FT transport.

研究分野：植物発生分子遺伝学

キーワード：シロイヌナズナ 花成 フロリゲン FT FD

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 植物は、多様な環境情報を処理し、成長や繁殖の最適化を達成している。花成現象は、環境情報の集積の結果、花成ホルモン・フロリゲン (FT タンパク質) が葉で産生されることによって起動する。その後、FT は葉から茎頂メリステムへと運ばれ、機能的パートナーである bZIP 型転写因子 FD と転写複合体を形成することによって、花芽形成を開始する (Abe et al., 2005)。FT を中心としたフロリゲン機能の大枠が明らかになった現在、次なる課題として、FT 機能を制御する各素過程の詳細な分子的理解とフロリゲンを介した花成制御機構に関する包括的な理解が求められている。

(2) 「環境情報に応じて葉で FT が産生される過程」「茎頂での FT-FD 複合体の形成過程」に関する理解に比べ、「葉から茎頂部の機能領域へと FT が輸送される過程」の分子的理解は極めて乏しい状況にある (図 1)。

(3) FT の輸送は、①葉の篩部伴細胞から篩管への積み込み、②篩管を介した長距離輸送、③茎頂付近の篩部末端における積み降ろし、④積み降ろし地点から機能領域までの細胞間輸送、によって成立しているが (Ahn, 2016)、本研究開始当初は、篩管への積み込み、および長距離輸送に関わる鍵因子の存在がようやく明らかになってきたところであった (Liu et al., 2012; Abe et al., 2015; Zhu et al., 2016)。FT タンパク質の茎頂メリステム内部の細胞間輸送に関する分子の見解は全く得られていない状況で本研究課題を開始した。

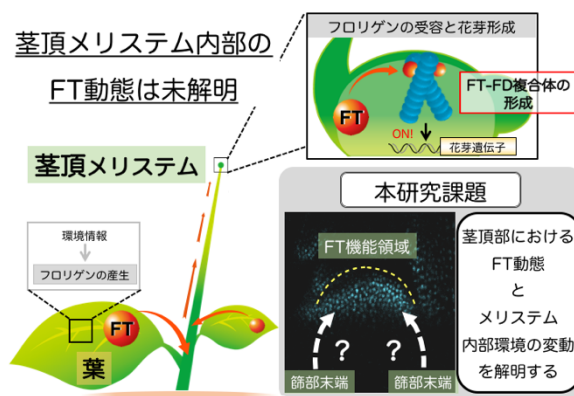


図1 フロリゲンを介した花成制御機構

### 2. 研究の目的

(1) 本研究課題では、「FT 自身」と FT 輸送の場である「茎頂メリステムの内部環境 (原形質連絡機能)」の双方に注目し、

研究項目 1: メリステム内の細胞間輸送に重要な FT アミノ酸配列の探索と同定

研究項目 2: メリステム内 FT 輸送への原形質連絡機能の関与の検証

研究項目 3: メリステムで形成される FT-FD 複合体の動態観察

研究項目 4: 栄養環境とフロリゲン輸送との関係性の検討

に取り組み、茎頂メリステムにおける FT の細胞間輸送機構の一端を分子的に解き明かすことを目指す。

(2) 本研究課題は、茎頂メリステムにおける FT 動態の理解を深化させることによって、フロリゲンを介した花成制御機構の包括的な理解の基盤とするものである。

### 3. 研究の方法

(1) メリステム内の細胞間輸送に重要な FT アミノ酸配列の探索と同定  
シロイヌナズナの FT タンパク質表面に位置するアミノ酸のうち、15 残基にフォーカスし、*in vivo* FT-FD 複合体可視化手法 (iBiFC 法; Abe et al., 2019) を活用してメリステム内輸送に重要なアミノ酸を検証した。篩部特異的プロモーター制御下で、17 アミノ酸の S-タグをつけた変異型 FT (S-mFT) を発現させる形質転換体を作成し、FT-FD 複合体形成を指標として変異型 FT の細胞間輸送能を評価した。

(2) メリステム内 FT 輸送への PD 機能の関与の検証  
iBiFC 法を用い、栄養成長相における茎頂メリステム内の FT 輸送経路を検証した。原形質連絡において FT 輸送に機能する候補因子と篩部特異的プロモーター下で野生型 S-FT を発現させた植物を作成し、原形質連絡における FT-輸送制御因子間の相互作用を検証した。

(3) メリステムで形成される FT-FD 複合体の動態理解  
申請者は、茎頂メリステムにおける FT-FD 複合体形成の *in vivo* 可視化を世界に先駆けて報告した (Abe et al., 2019)。FT-FD 複合体形成過程を経時的に詳細観察するために、新たに透明化技術、細胞壁染色手法を導入し、*in vivo* 可視化手法の改良に取り組んだ。改良ののちに、共焦点レーザー顕微鏡を用いた FT-FD 複合体構成要素の詳細な動態観察を実施した。

#### (4) 栄養環境とフロリゲン輸送との関係性の検討

北海道大学・佐藤長緒准教授らとの共同研究を開始し、栄養環境とフロリゲン輸送との関連性を検討した。

#### 4. 研究成果

(1) 透明化技術ならびに細胞壁染色法の新たな導入によって、iBiFC 蛍光の経時的観察が高解像度で可能となり、FT-FD 複合体動態の詳細な観察が可能になった (研究項目 3)。

(2) 研究項目 1 の実施により、新たに複数の FT 輸送制御配列を見出した。その配列情報から FT と脂質の結合が FT 輸送過程において重要である可能性を見出した。脂質-タンパク質間相互作用の検証技術を活用することにより、HD-ZipIV 型転写制御因子の機能解析にも新たな展開をもたらすことができた。

(3) 研究項目 2 の実施により、FT と輸送制御因子候補の原形質連絡における相互作用を検出することができた。今後、この候補因子に注目し、シロイヌナズナ茎頂周辺部における候補因子の発現解析を実施する計画である。

(4) 研究項目 1 によって得られた輸送異常の変異型 FT と研究項目 2 で得られた輸送制御因子間の原形質連絡における相互作用を検討し、変異型 FT の輸送異常は原形質連絡における両者間の相互作用異常に起因することが明らかになった。

(5) FT-FD 複合体の *in vivo* 可視化手法は、FT 輸送の理解に向けて極めて有効であることが判明した。本研究課題によって明らかとなった、FT 輸送制御配列、脂質との相互作用、そして原形質連絡に局在する FT 輸送制御因子の理解が進むことにより、フロリゲン機能の本質である細胞非自律的な特性の分子的な理解が飛躍的に進むことが期待される。

(6) 研究項目 4 の実施により、窒素量に応じた花成制御に FBH4 機能が重要であり、FBH4 タンパク質のリン酸化修飾が鍵となることを発見した。FBH4 タンパク質のリン酸化修飾レベルが窒素欠乏条件下の植物では顕著に減少する。この結果生じる FT 産生量の増加によって花成誘導がもたらされることが判明した。

#### <引用文献>

Abe, M. et al. (2005) *Science*, 309(5737), 1052–1056.

Ahn JH. (2016) *Nature Plants*, 2(6), 16081.

Liu, L. et al. (2012) *PLOS Biology*, 10(4), e1001313.

Abe, M. et al. (2015) *The Plant Journal*, 83(6), 1059–1068.

Zhu, Y. et al. (2016) *Nature Plants*, 2(6), 1–10.

Abe, M. et al. (2019) *Development*, 146, dev171504.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Nagata Kenji, Ishikawa Toshiki, Kawai-Yamada Maki, Takahashi Taku, Abe Mitsutomo	4. 巻 148
2. 論文標題 Ceramides mediate positional signals in Arabidopsis thaliana protoderm differentiation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Development	6. 最初と最後の頁 dev194969
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1242/dev.194969	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Sanagi Miho, Aoyama Shoki, Kubo Akio, Lu Yu, Sato Yasutake, Ito Shogo, Abe Mitsutomo, Mitsuda Nobutaka, Ohme-Takagi Masaru, Kiba Takatoshi, Nakagami Hirofumi, Rolland Filip, Yamaguchi Junji, Imaizumi Takato, Sato Takeo	4. 巻 118
2. 論文標題 Low nitrogen conditions accelerate flowering by modulating the phosphorylation state of FLOWERING BHLH 4 in <i>Arabidopsis</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 e2022942118
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1073/pnas.2022942118	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nagata Kenji, Abe Mitsutomo	4. 巻 63
2. 論文標題 The lipid binding START domain regulates the dimerization of ATML1 via modulating the ZIP motif activity in <i>Arabidopsis thaliana</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Development, Growth & Differentiation	6. 最初と最後の頁 448 ~ 454
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/dgd.12753	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計16件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 村田裕介, 阿部光知
2. 発表標題 茎頂におけるFTタンパク質の輸送機構の解明
3. 学会等名 日本植物学会 第85回大会
4. 発表年 2021年 ~ 2022年

1. 発表者名 眞木美帆, 久保晃生, 佐藤靖武, 阿部光知, 木羽隆敏, Filip Rolland, 山口淳二, 今泉貴登, 佐藤長緒
2. 発表標題 転写因子FBH4によるシロイヌナズナの窒素応答性花成制御機構
3. 学会等名 日本植物学会 第85回大会
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 永田賢司, 阿部光知
2. 発表標題 シロイヌナズナ表皮細胞分化における鍵転写因子ATML1・PDF2のDNA結合は脂質によって制御される
3. 学会等名 日本植物学会 第85回大会
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 村田裕介, 阿部光知
2. 発表標題 環境要因がFT タンパク質輸送に及ぼす影響解析
3. 学会等名 第63回 日本植物生理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山本真結香, 吉田晟人, 根岸克弥, 大野奈津美, 阿部光知, 土岐精一, 小林括平, 賀屋秀隆
2. 発表標題 新奇SpCas9-NGv1 を用いたシロイヌナズナFT 遺伝子の発現制御に関わる内在 cis-element 解析
3. 学会等名 第63回 日本植物生理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 馬淵敦士、門田慧奈、野田口理孝、筒井大貴、櫻庭康仁、祢豆淳太郎、阿部光知、柳澤修一、射場厚
2. 発表標題 極限低窒素適応形質の接木によるシロイヌナズナエコタイプ間移動
3. 学会等名 日本植物学会 第84回大会
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 吉田晟人、根岸克弥、山本真結香、阿部光知、土岐精一、小林括平、賀屋秀隆
2. 発表標題 新奇 SpCas9-NG を用いたシロイヌナズナ FT 遺伝子の内在 cis-element 解析
3. 学会等名 日本植物学会 第84回大会
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 村田祐介、阿部光知
2. 発表標題 FTタンパク質の輸送経路の探索
3. 学会等名 第62回 日本植物生理学会大会
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 吉田晟人、根岸克弥、山本真結香、阿部光知、土岐精一、小林括平、賀屋秀隆
2. 発表標題 シロイヌナズナ FT 遺伝子 promoter のゲノム編集によるcis-elementの機能解析
3. 学会等名 第62回 日本植物生理学会大会
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 永田賢司、阿部 光知
2. 発表標題 植物の体の方向を決定する仕組み-脂質が媒介する表層位置情報伝達-
3. 学会等名 第20回 東京大学生命科学シンポジウム
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 小阪真悟、阿部光知
2. 発表標題 FLOWERING LOCUS Tタンパク質の細胞間移行に重要なアミノ酸配列の同定
3. 学会等名 日本植物学会 第83回大会
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 馬淵 敦士、門田 慧奈、野田口 理孝、筒井 大貴、櫻庭 康仁、祢亘 淳太郎、阿部 光知、柳澤 修一、射場 厚
2. 発表標題 極限邸窒素環境において高成長を示すシロイヌナズナエコタイプの接木実験
3. 学会等名 日本植物学会 第83回大会
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 永田賢司、石川寿樹、川合真紀、高橋卓、阿部光知
2. 発表標題 植物細胞膜内に存在するセラミドが表皮細胞の正しい分化位置を制御している
3. 学会等名 第61回 日本植物生理学会年会
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 馬淵 敦士、門田 慧奈、野田口 理孝、筒井 大貴、櫻庭 康仁、祢冢 淳太郎、阿部 光知、柳澤 修一、射場 厚
2. 発表標題 シロイヌナズナ野生系統が持つ窒素欠乏適応形質の接木による他系統への付与
3. 学会等名 第61回 日本植物生理学会年会
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 眞木美帆、久保晃生、伊藤照悟、阿部光知、今泉貴登、山口淳二、佐藤長緒
2. 発表標題 シロイヌナズナにおける窒素栄養条件に応じた花成制御機構
3. 学会等名 第61回 日本植物生理学会年会
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 Mitsutomo Abe
2. 発表標題 Toward understanding the molecular mechanism of florigen transport in Arabidopsis shoot apex
3. 学会等名 第61回 日本植物生理学会年会（招待講演）
4. 発表年 2019年～2020年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 日本遺伝学会	4. 発行年 2022年
2. 出版社 丸善出版	5. 総ページ数 690
3. 書名 遺伝学の百科事典	

〔産業財産権〕



〔その他〕

花を咲かせるスイッチが押される瞬間 ~ フロリゲン複合体の動態を解明 ~  
<https://www.s.u-tokyo.ac.jp/ja/press/2019/6337/>  
 花を咲かせるスイッチが押される瞬間 ~ フロリゲン複合体の動態を解明 ~  
<https://www.c.u-tokyo.ac.jp/info/news/topics/files/20190403abesobun01.pdf>  
 東大、植物が花を咲かせる仕組みを解明  
[https://www.nikkei.com/article/DGXLRSF506605\\_R00C19A400000/](https://www.nikkei.com/article/DGXLRSF506605_R00C19A400000/)  
 植物が栄養環境に応じて花を咲かせる仕組みを解明  
[https://63cb27b8-0cce-4ca6-9542-1a48b7a52fb3.filesusr.com/ugd/9ccee6\\_46fbc4efd1764620bd32dbb5fdc284f4.pdf](https://63cb27b8-0cce-4ca6-9542-1a48b7a52fb3.filesusr.com/ugd/9ccee6_46fbc4efd1764620bd32dbb5fdc284f4.pdf)

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
米国	University of Washington			
ベルギー	KU Leuven			
ドイツ	Max Planck Institute			