

平成 30 年 6 月 15 日現在

機関番号：82626

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2017

課題番号：26660296

研究課題名(和文) 一年生植物シロイヌナズナを多年生にする

研究課題名(英文) Converting the annual *Arabidopsis thaliana* to the perennial

研究代表者

藤原 すみれ (Fujiwara, Sumire)

国立研究開発法人産業技術総合研究所・生命工学領域・主任研究員

研究者番号：50532131

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、一年生植物であるシロイヌナズナにおいて、ある転写因子を強く発現させた際に見られる多年生的形質やその関連因子に着目し解析することで、一年生植物と多年生植物の違いを生み出す未同定の因子を発見・解析するとともに、分子育種等に役立つ知見を得ることを目的として実施した。その結果、当該転写因子は日長や温度といった外的環境による制御およびスプライシングパターンの制御などの内的制御を受けながら多様な役割を發揮し、植物が適切に一年生植物として生長できるように機能することが示唆された。さらに、これらの制御に関与すると考えられる新規の因子を同定した。

研究成果の概要(英文)：In this study, we aimed for the identification of new factors and mechanisms which cause the difference between annuals and perennials in plants. We utilized the transgenic *Arabidopsis* plants which acquired perennial-like features by overexpression of a transcription factor. We found that the perennial-like features were affected by both external factors, such as photoperiod and temperature, and internal factors such as production of splicing variants. These data suggested that this transcription factor function for *Arabidopsis* plants to properly grow as annuals under the regulation of external and internal factors. We also identified genes required for the transcription factor function to cause perennial-like phenotypes.

研究分野：植物の遺伝子制御および分子育種

キーワード：多年生 一年生 花成 シロイヌナズナ

1. 研究開始当初の背景

一般に、一年生の植物は花と実を付けた後に一年未満で枯死するが、多年生の植物は季節の変動に合わせて栄養生長と生殖生長を繰り返しながら複数年生育し続ける。さらに、温帯に生育する樹木においては、生長と休眠（落葉や休眠芽の形成）を繰り返すことで季節の変化を乗り越える。これらの現象においては、外環境の変化が生長プログラムを切り替えるための重要な情報となっている。環境の変化に应答して栄養生長から生殖生長に切り替わる「花成」に関しては、一年生植物において非常に多くの研究が行われてきており、解明が進んでいる（Andres and Coupland, 2012）。一方、多年生植物が生長プログラムの切り替えを繰り返しながら複数年生存し続ける機構は、一年生植物と比較して解析が難しいこともあり、知見が限られている。そのような中で、シロイヌナズナ（*Arabidopsis thaliana*）近縁の多年生植物 *Arabis alpina* において、多年生植物の花成制御の中心因子と考えられる PEP1（PERPETUAL FLOWERING 1）が同定された（Wang et al, 2009）。PEP1 はシロイヌナズナの花成抑制因子 FLC（FLOWERING LOCUS C）のオルソログであり、FLC と同様の、低温に十分曝されるまで花成を抑えることで春に花を咲かせるという機能に加え、生殖生長から栄養生長に戻す、一部の枝の開花を抑止する、といったシロイヌナズナでは通常認められない複数の機能を *Arabis alpina* で担うことが示された。

申請者は、ある転写因子（以下当該転写因子とする）をシロイヌナズナで強く発現させると、遅咲き形質に加え、多年生の近縁種と類似した形質が複数現れることを発見した。この強発現植物体は、長日条件 22 で栽培し

た場合、140 cm を超えるまで半年以上花茎をツルのように伸ばし続けた（図 1）。茎の伸長に伴い後から付いた花は不稔となった。さらに、通常は花茎から伸びた小花柄の先端に花が一つだけ付くが、この植物体の場合には一度花を付けた部分から再び小花柄が伸び、その先端にさらに花を付けた（図 2）。これらの形質は多年生の近縁種で見られるものと類似しており、この強発現体が多年生形質もしくはそれに近い形質を獲得していると想定された。

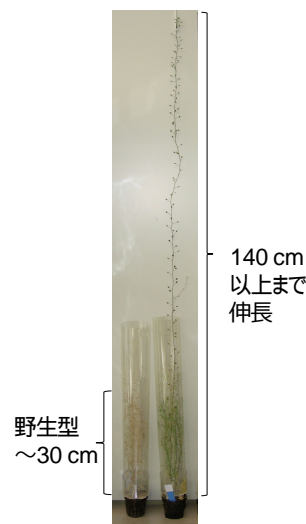


図 1 当該転写因子を強発現させたシロイヌナズナは茎をつるのように伸ばしながら成長し続ける。



図 2 当該植物体は一度花を付けた部位から再び茎を伸ばして花を付ける。

2. 研究の目的

一年生のモデル植物シロイヌナズナには、多年生の近縁種も多く存在している。また、原産地では多年生だが、越冬や越夏が困難なために日本では実質一年生となる植物（野菜や園芸植物など）が多く存在する。しかし、一年生植物と多年生植物の違いや、多年生植物が生育環境の影響で実質一年生になる原因

のメカニズムの詳細については未解明な点が多く残されている。本研究では、我々の発見した、当該転写因子を強く過剰発現させることでシロイヌナズナが多年生近縁種と類似した特徴を複数獲得するという現象に主に着目し、各種解析を行うことで、一年生と多年生の差を生み出す原因の解明や分子育種等への貢献につながる新規知見を得ることを目指した。

3. 研究の方法

本研究では、まず、当該転写因子の強発現体の形質と栽培環境の関係について、各種条件下での栽培により検証した。また、当該転写因子のスプライシングバリエーションの働きについても検証を実施した。

さらに、一年生と多年生の違いを生み出す機構には他の多くの因子が関与すると考えられることから、当該転写因子の強発現体の形質に影響を与える遺伝子変異の同定や、当該転写因子と似たもしくは重複した働きを持つ新規因子の同定と解析も行うこととした。

4. 研究成果

各種条件下での栽培試験の結果、当該形質転換体の特徴的な形質は日長条件や温度によって大きく変化することを見出した。具体的には、通常の栽培温度（22℃）の長日条件下や恒明条件下では花茎がツルのように伸長し続け、生長相の逆転が起こるといった形質を示したが、同温度の短日条件下や高温条件下などではそれらの形質が見られなくなった。

また、当該転写因子のスプライシングパターンの変化により、過剰発現した際に花成や

器官形成に与える影響が変化することを見出した。さらに、転写抑制因子として働くと考えられる当該転写因子に転写活性化ドメインの VP16 を付加することで機能を転換させると、多年生的形質は見られなくなった。

これらの結果から、この転写因子は、各種の外的環境による制御（日長や温度など）やそれらにより変化する内的制御（スプライシング制御など）を受けながら転写抑制因子として多様な役割を發揮し、シロイヌナズナが適切に一年生植物として生長できるように機能することが示唆された。

一方、シロイヌナズナと異なる日長感受性を示す植物にて当該転写因子を過剰発現させる形質転換体を作成し栽培試験を実施したところ、それらの植物においては目立った形質は観察されなかった。このことから、当該転写因子の機能には植物種や日長感受性によって異なる他の因子やメカニズムが関与することが示唆された。

また、当該形質転換体の多年生的形質に影響を与える遺伝子変異を探索した結果、破壊することでその形質が抑えられる遺伝子を同定した。さらに、過剰発現することで当該形質転換体と類似した形質を獲得する他の転写因子も同定した。

上記に加え、当該転写因子との関連が示唆される遺伝子の中から、機能欠損株や過剰発現体において花成時期や形態形成などに影響がみられるものを複数見出した。そのうちのひとつである転写因子 ANAC075 について解析を実施した結果、ANAC075 は維管束などで発現する新規の花成抑制因子であり、その遺伝子破壊株では花成ホルモンをコードする遺伝子（*FLOWERING LOCUS T*）などの花成促進遺伝子の発現が上昇することで長日、短日の両条件下で開花の促進が見られることを見出した

(Fujiwara and Mitsuda, 2016)。

本研究において独自の植物材料や知見などを活かして得られた成果は、植物の一年生と多年生の違いや花成制御機構を理解する上で非常に重要であり、今後の基礎研究および応用研究の進展に貢献するものである。

<引用文献>

Andrés F, Coupland G, The genetic basis of flowering responses to seasonal cues, Nature Reviews Genetics, 2012, 13(9):627-639.

Wang R, Farrona S, Vincent C, Joecker A, Schoof H, Turck F, Alonso-Blanco C, Coupland G, Albani MC, PEP1 regulates perennial flowering in Arabis alpine, Nature, 2009, 459(7245):423-427.

Fujiwara S, Mitsuda N, ANAC075, a putative regulator of VASCULAR-RELATED NAC-DOMAIN7, is a repressor of flowering, Plant Biotechnology, 2016, 33(4):255-265

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 1 件)

藤原 すみれ、光田 展隆、ANAC075, a putative regulator of VASCULAR-RELATED NAC-DOMAIN7, is a repressor of flowering, PLANT BIOTECHNOLOGY、2016、査読有、33-4、255-265
DOI: 10.5511/plantbiotechnology.16.0215b

[学会発表](計 1 件)

藤原 すみれ、木越 景子、多年生の形質を獲得したシロイヌナズナ転写抑制因子の過剰発現体の解析、第33回日本植物細胞分子生物学会(東京)大会・シンポジウム、2015年

[その他]

藤原 すみれ、転写制御技術を利用したスーパー植物の開発、第16回産総研・産技連LS-BT合同研究発表会シンポジウム、2017年

ホームページ

<https://unit.aist.go.jp/bpri/bpri-pgrr/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

藤原 すみれ(FUJIWARA, Sumire)
産業技術総合研究所・生物プロセス研究部門・主任研究員
研究者番号: 50532131

(2)研究協力者

光田 展隆(MITSUDA, Nobutaka)
木越 景子(KIGOSHI, Keiko)