

令和 5 年 6 月 19 日現在

機関番号：14603

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K16170

研究課題名（和文）野外環境における光による花成制御の分子機構

研究課題名（英文）Analyses of light-mediated flowering regulation under natural environment

研究代表者

波間 茜（久保田茜）（Namima, Akane）

奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・助教

研究者番号：70835371

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、野外環境における季節性花成応答の分子メカニズムの解明を目的とした。代表者らが独自に確立させた、実験室における野外環境の再構成系を用いることで、フロリゲン遺伝子FTの発現制御機構の解明を試みた。その結果、朝のFT遺伝子発現の制御は主にFR高照射応答を介して制御されることを見出した。また、朝のFTの誘導にはフィトクロムAおよびその相互作用因子であるbHLH型転写因子PIF7が関与することを見出した。以上より、植物は1日のうちに異なる光シグナル経路を使い分けることで、朝夕2回のFT遺伝子の発現量を制御する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

朝夕のFT発現は野外で発見された現象であり、FTは農作物全般に保存された花成ホルモンであることから、本研究の成果は学術面以外にも農業面への応用性を担保しており、実社会への還元性も高い。FTタンパク質は、花成ホルモンとして茎頂で機能する他に種子、気孔においても長距離シグナル伝達物質として様々な形態形成・環境応答を制御する [Kinoshita et al., 2011; Chen and Penfield, 2018]。これらの分野でも夕方にのみFTが機能することを前提とした理解がなされてきたが、本研究で朝FTの環境応答性についての理解が進むことによって、既知の関連因子の機能の見直しにつながる。

研究成果の概要（英文）：The objective of this study was to elucidate the molecular mechanism of seasonal florigen response in the field environment. By using a reconstructed system of the outdoor environment in the laboratory, which was originally established by the principal investigators, we attempted to elucidate the regulatory mechanism of the florigen gene FT expression. As a result, they found that the regulation of morning FT gene expression is mainly regulated via the FR-high irradiation response. We also found that phytochrome A and its interacting factor, the bHLH-type transcription factor PIF7, are involved in the induction of morning FT. These results suggest that plants may regulate the expression levels of FT genes twice a day, in the morning and evening, by using different light-signaling pathways during the day.

研究分野：植物分子遺伝学

キーワード：光周性花成 フィトクロム 概日時計

1. 研究開始当初の背景

適切なタイミングでの花成は、植物の生存戦略としてだけでなく農業においても重要である。花成ホルモンフロリゲンをコードする *FT* 遺伝子の発現は、これまでの実験室条件では、夕方に1回のみであり、そのことを前提とした基礎・応用研究が進められてきた。しかし申請者らは、野外条件において *FT* は夕方だけでなく朝方にも発現しており、花成に重要な役割を果たしていることを見出した(図1, Song et al., 2018)。さらに、実験室条件においても温度と光質 [赤色光/遠赤色光 (R/FR)] を適切に調節することで、野外の *FT* 発現と花成時期を再現できることを示し、これを用いた実験から、赤色光遠赤色光受容体であるフィトクロム A (phyA) が重要であることを明らかにしたが、朝の *FT* がどのような分子メカニズムで制御されるかについては不明なままであった。

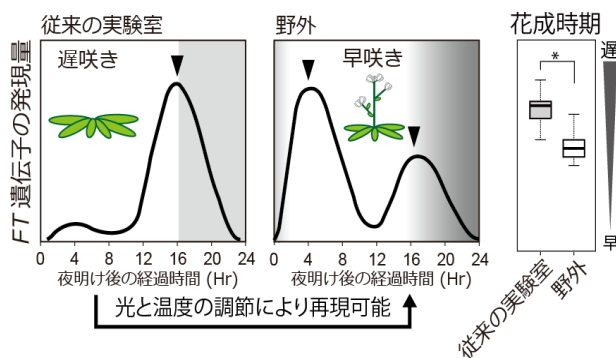


図1 野外と実験室環境での花成応答の違い

2. 研究の目的

本研究では、光および温度シグナルによって朝に *FT* が誘導される分子メカニズムの解明を目的とした。代表者らが独自に確立させた、野外環境の実験室における再構成系を発展させ、「光」「温度」といった個別の環境因子が朝夕の *FT* 発現にそれぞれどのような影響を与えるかを生理学的に明らかにしつつ、背景となる制御メカニズムの解明に取り組んだ。特に、phyA を起点とした朝 *FT* 誘導のシグナル伝達機構の解明を目標とすることとした。

3. 研究の方法

代表者らは、1日のどのタイミングにおける光 (特に FR シグナル) および温度シグナルが重要であるかを明らかにするために、FR 補光および温度変動を1日の異なるタイミングで変化させて *FT* 遺伝子の発現を解析することで、これらの環境シグナルの時間特異性を検証した。さらに、これらの条件で既存の花成制御因子の変異体における *FT* 発現を解析することで、*FT* 制御に重要な役割をもつ転写因子の特定を試みた。同定した転写因子について、それぞれ転写産物およびタンパク質蓄積量の環境に対する応答性を検証することで、光・温度といった環境シグナルが個々の制御因子に対して具体的にどのような影響を与えるかを明らかにした。さらに、クロマチン免疫沈降を用いて、着目する転写因子の *FT* 遺伝子座への結合能の条件特異性を検証した。これらの手法を組み合わせることで、環境シグナルが個々の制御因子の挙動にどのような影響を及ぼすことで、*FT* 遺伝子の発現変動が生じるかについて、具体的な知見を得た。

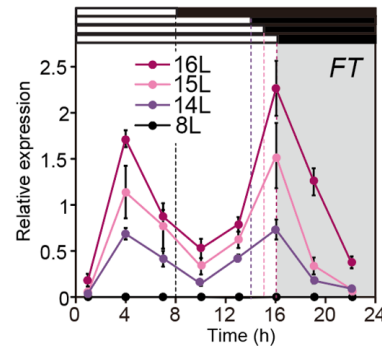
4. 研究成果

野外の春先の環境条件を参考に、温度と光 (日長) をそれぞれ変化させて *FT* の発現

様式を解析した結果、日長は朝夕の *FT* 発現を促進するのに対し、温度変動は主に夕方の *FT* の発現を抑制することを見出した (図 2)。さらに、一定の日長条件で FR を補光するタイミングを

様々に変化させることで朝夕の *FT* 誘導を解析した結果、FR シグナルは朝夕の *FT* 発現をそれぞれ独立の分子機構で制御しており、朝の *FT* 発現は FR の照射量および期間に比例して発現が促

☀️ 温度一定で日長を変化



❄️ 日長一定で温度を変化

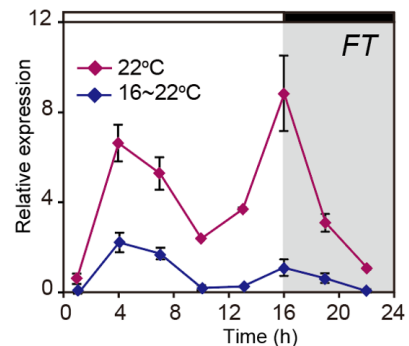


図 2 日長および温度に対する *FT* 遺伝子の発現変動

進される FR 高照射応答で説明されるのに対し、夕方の *FT* 発現は FR 照射のタイミングが重要であることを見出した (Lee et al., 2023)。さらに、フィトクロム相互作用因子である bHLH 型転写因子 PHYTOCHROME INTERACTING FACTOR7 (PIF7) が FR 依存的な朝の *FT* 発現の促進因子であること、PIF7 は FR 存在下で特に *FT* の 3'側に位置するエンハンサー領域に結合することを明らかにした (Lee et al., 2023)。これらの結果から、野外の植物は 1 日のうちに異なる光シグナル経路を使い分けることで、朝夕 2 回の *FT* 遺伝子の発現量を制御している可能性が示唆された。

一方で代表者らは、日長が刻々と変化する野外環境において、日没・夜明けのタイミングを変化が *FT* の発現変動に与える影響を解析するために、一日の夜明けや夕暮れを変化させた、いわば「時差ボケ」状態においた植物において朝夕の *FT* の誘導が変化するかを解析した。その結果、時差ボケのタイミングによって *FT* の誘導度が顕著に変化すること、*FT* の発現量の調整に時計遺伝子が関与する可能性を見出した。具体的には、光シグナルと概日時計シグナルは *FT* の転写促進因子である *CO* の転写・翻訳制御を時間特異的に変化させることによって、*FT* の誘導度を決定づけている可能性を見出した。これらの結果は、既存の花成制御における日長認識モデルとは異なる点も多いため、これまで広く受け入れられてきたモデルにおける概日時計の役割については再考の必要性があると考えられた。

また代表者らは、温度変動が朝夕の *FT* 発現に与える影響をより詳細に解析するために、野外の温度変動の実験室条件下での単純化を試み、連続的な温度変動を最高・最低気温の 2 段階変動に単純化することに成功した。得られた結果を基に様々な温度条件下で *FT* 遺伝子の発現変動及び花成応答を詳細に解析することで、温度シグナルは時間特異的に *FT* の発現を制御することを見出した。また、*phyA* や *phyB* は温度依存的な *FT* 制御にも関与することを見出した。次に、温度・時間特異的な RNAseq 解析により *FT* 制御因子候補を探索した結果、朝夕それぞれの *FT* 発現に特異的な候補因子を多数得た。現在これらの候補因子について、変異体の作出と表現型解析を詳細に進めており、朝夕それぞれの *FT* 発現制御への関与を検証中である。

以上の結果を合わせ、野外において植物は、時間情報を基に温度や光シグナルを適切に処理することで朝夕の *FT* 発現を調節し、春先の花成応答の最適化に役立てていることが考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kubota A, Song YH, Imaizumi T	4. 巻 2398
2. 論文標題 Simple Nuclei Preparation and Co-immunoprecipitation Procedures for Studying Protein Abundance and Interactions in Plant Circadian Time Courses	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)	6. 最初と最後の頁 121-134
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-0716-1912-4_11	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 該当する

1. 著者名 Lee Nayoung, Ozaki Yusuke, Hempton Andrew K., Takagi Hiroshi, Purusuwashi Savita, Song Young Hun, Endo Motomu, Kubota Akane, Imaizumi Takato	4. 巻 239
2. 論文標題 The FLOWERING LOCUS T gene expression is controlled by high irradiance response and external coincidence mechanism in long days in Arabidopsis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 New Phytologist	6. 最初と最後の頁 208 ~ 221
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/nph.18932	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 該当する

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 久保田茜、近藤祐雅、遠藤求、今泉貴登
2. 発表標題 野外環境における光と温度によるFT遺伝子の発現制御機構
3. 学会等名 日本植物学会 第85回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Akane Kubota, Yusuke Ozaki, Yoshinori Kondo, Motomu Endo, Takato Imaizumi
2. 発表標題 Seasonal cues control the daily expression patterns of FT to optimize flowering time in nature
3. 学会等名 第44回分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 久保田茜、山本いずみ、遠藤求
2. 発表標題 時差ボケ実験から植物の外的符合モデルを再考する
3. 学会等名 第28回 日本時間生物学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 尾崎友亮、久保田茜、今泉貴登、遠藤求
2. 発表標題 日中の高温は朝FTの誘導を介して花成を促進する
3. 学会等名 第62回日本植物生理学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kubota, A., Lee, N., Song, YH., Endo, M., Imaizumi T
2. 発表標題 Effect of light and temperature fluctuation on daily FT expression pattern
3. 学会等名 International Symposium of Plant Photobiology
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Akane Kubota, Shingo Imamura, Motomu Endo, and Takato Imaizumi
2. 発表標題 Molecular mechanism of day-length measurement under natural conditions
3. 学会等名 第61回日本植物生理学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 久保田茜, 近藤祐雅, 菅野茂夫, 村中智明, 遠藤 求, 今泉貴登
2. 発表標題 季節性花成応答から探る植物の生殖戦略
3. 学会等名 第64回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 久保田茜, 尾崎友亮, 村中智明, 永野惇, 遠藤求, 今泉貴登
2. 発表標題 温度変動から読み解く季節性花成応答の分子メカニズム
3. 学会等名 日本植物学会第86回大会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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	ワシントン大			
韓国	ソウル大			