

機関番号：12601

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21770044

研究課題名 (和文)

シロイヌナズナ花成遺伝子 *FT* のエピジェネティックな発現制御機構の解明研究課題名 (英文) Molecular analysis of *Arabidopsis* flowering gene *FT*

研究代表者

阿部 光知 (ABE MITSUTOMO)

東京大学大学院理学系研究科・准教授

研究者番号：20343238

研究成果の概要 (和文)：*FLOWERING LOCUS T (FT)* 遺伝子の発現誘導は、シロイヌナズナの花成制御における最も重要な制御プロセスの一つである。本研究課題では、新奇の *FT* 過剰発現突然変異体ならびに *fe* 変異体に注目し、*FT* の転写制御の分子的仕組みを理解する事を目指し研究を進めた。その結果、PAF1 複合体、LHP1 機能の *FT* 転写制御における重要性を再確認する事が出来たのに加え、FE タンパク質が *CONSTANS* タンパク質と共に、*FT* の転写活性化に寄与している可能性が明らかになった。

研究成果の概要 (英文)：The activation of *FT* is a crucial step in the decision to flower, since the protein encoded by *FT* is a key component of the systemic flowering signal “florigen”. In this research, we focused on the novel *Arabidopsis* flowering mutants to understand the molecular mechanism of *FT* transcription. We found that Myb-related transcription factor might be involved in the transcriptional activation of *FT* expression.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,700,000	810,000	3,510,000
2010年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：植物分子遺伝学

科研費の分科・細目：基礎生物学、植物分子生物・生理学

キーワード：シロイヌナズナ、花成、フロリゲン

## 1. 研究開始当初の背景

シロイヌナズナ *FLOWERING LOCUS T (FT)* 遺伝子産物が花成を誘導する長距離シグナル分子 (フロリゲン) として機能することは、我々を含めた多くの研究グループが

様々な実験手法を駆使することによって証明されてきた (Abe et al. 2005, Wigge et al. 2005, Corbesier et al. 2007, Tamaki et al. 2007, Jaeger and Wigge 2007, Mathieu et al. 2007, Lin et al. 2007, Notaguchi et al. 2008)。*FT* の花成制御における重要性は、*FT* タンパク質がフロリゲ

ンの分子の実体として機能していることから明白であるが、花成を制御する様々な外的環境要因（日長、光質、温度など）および内的要因（齢、ホルモンなど）の情報が *FT* に集約されている点、すなわち *FT* が「花成経路統合遺伝子」として機能する事も、*FT* のもつ重要な特質の一つである。つまり、複数の経路からの情報は *FT* の転写活性化と抑制という形に変換され、最終的には両者の組み合わせによる *FT* の発現パターン・レベルの制御に反映されてくる。したがって、*FT* は複雑な発現制御機構をもち、このことは、*FT* の発現パターンを再現する上で 11 kbp にも及ぶ発現制御領域を必要としていることから容易に想像がつく。

*FT* は、長日条件下で主に CONSTANS (CO) タンパク質による転写の活性化を受け、葉の維管束篩部において夕方にピークをもつ明確な日周変動パターンを示すようになる。一方で、*FT* 遺伝子の発現抑制機構については、短日条件下ならびに葉の基部付近における抑制に関するいくつかの報告例はあるものの (Takada and Goto 2003, Pineiro et al. 2003, Gomez-Mena et al. 2003)、現時点でメカニズムの詳細の分子的理解には至っていない。また、*FT* の発現に関わるエピジェネティックな抑制機構に関する知見も依然として十分とは言えず、現時点においても新規な知見が求められる状況にある。

## 2. 研究の目的

花成を制御する外的・内的環境情報は、我々が注目する *FT* 遺伝子の発現制御機構に集約され、最終的にはフロリゲンの産生という形で効果が発揮される。

これまでに CO を中心とした *FT* 転写活性化の仕組みに関しては多くの知見が蓄積しているのに対して、発現を抑制するメカニズムに関しては大きな進展が見いだせず、現在に至っている。しかしながら 2007 年以降、エピジェネティックな抑制機構が *FT* 遺伝子の発現抑制制御に関与していることを示唆する報告がなされ、*FT* の抑制機構に関しても今後新たな展望が開けることが期待される。そこで我々は、独自に単離した新奇の *FT* 過剰発現突然変異体に注目し、遺伝学的アプローチによって *FT* の発現抑制機構の一端を明らかにすることを目指す。

また、*FT* 遺伝子の転写制御機構を理解する上で、新奇 *FT* 転写活性化因子の同定も不可欠であると考え。そこで、予備的な解析から *FT* の転写活性化に参与すると予想される *FE* にも注目し、*fe* 変異体の原因遺伝子の同定並びに機能解析に関して、新たな知見の獲得を目指していく。

## 3. 研究の方法

*FT* 遺伝子の転写制御の仕組みを抑制、活性化の両面から明らかにすることを目指し、シロイヌナズナの花成変異体を材料に、主に分子遺伝学的手法を使って解析を行った。

(1) 研究代表者が独自に単離した新奇のシロイヌナズナ花成早化突然変異体 (*FT* 過剰発現変異体) について、花成表現型の詳細な解析と共に、分子遺伝学的定法に従い原因遺伝子のクローニングを行った。また、併せて花成マーカー遺伝子の発現解析を行うことにより、花成制御機構における原因遺伝子の位置づけを明確にすることを目指した。

(2) 平成 21 年 10 月以降、新たに花成遅延変異体 *fe* に注目をして、分子遺伝学的解析を行った。*fe* 変異体はフロリゲンの分子の実体である *FT* の機能喪失変異体と非常に良く似た花成表現型を示す事が報告されており、興味深い変異体である。しかしながら、1991 年に変異体の単離が報告されて以降、その後の進展は報告されていない。そこで、改めて花成表現型の解析を行うと共に、原因遺伝子のクローニングを試みた。さらに、クローニングの結果、*FE* が Myb 型の転写因子をコードしていることが明らかになったことから、*FE* が CO タンパク質と共に *FT* の転写制御に関わっている可能性を考え、両者のタンパク質間相互作用を検討することとした。

## 4. 研究成果

(1) 我々が独自に単離した新奇の *FT* 過剰発現体の花成表現型を各種条件下で観察した結果、長日条件下において明確な花成早化表現型を確認することができた。また、#17 系統、#146 系統に関して原因遺伝子をクローニングした結果、#17 系統はエピジェネティック

な遺伝子制御に関与する *TFL2* 遺伝子の機能喪失変異体、#146 系統 (#301 系統のアレルであることも判明) は、polymerase associated factor (PAF1) 複合体の構成因子の一つである *ELF8* 遺伝子に塩基置換が生じた変異体であることが判明した。さらに、両変異体系統において、花成抑制遺伝子 *FLC* の発現を解析した結果、#17 系統では、*FLC* 遺伝子の発現には大きな変化が観察されなかったものの、#146 系統では、*FLC* 遺伝子の発現量が大幅に減少していた。このことから、#146 機能は *FT* の転写に直接関与しているのではなく、*FLC* を介して *FT* の発現の上昇を引き起こしていると予想される。一方、#17 系統においては、*gFT-GUS* の時空間的発現パターンの異常を観察することができた。

(2) *FE* の花成制御における機能を明らかにするために、*fe* 変異体の花成表現型を改めて観察した。その結果、*fe* 変異体において *ft* 変異体と同様の長日条件下特異的な花成遅延表現型が観察された。また、*Ify* 変異体との遺伝学的相互作用を検討した結果からも、*fe* 変異体と *ft* 変異体との遺伝的類似性を見いだすことができた。さらに、*fe* 変異体に *gFT-GUS* を導入し、*FT* 遺伝子の発現を解析した結果、*fe* 背景では *FT* の転写量が減少していることが観察され、これらの結果を総合して考えると、*FE* タンパク質が *FT* 遺伝子の転写活性化を介してフロリゲン機能の制御に関与していることが示唆される。

分子遺伝学的手法により *fe* の原因遺伝子を同定したところ、*FE* は Myb 様の転写制御因子をコードしていることが明らかになった。*FE* が *FT* の転写活性化に関わることが予想されたことから、*FT* の転写活性化の主要な因子である CO タンパク質 (b-BOX 型転写制御因子) と協同して *FT* の転写に関与している可能性を検討することとした。*FE* タンパク質と CO タンパク質の間のタンパク質間相互作用を酵母の two-hybrid 法を用いて検討した結果、*FE* が CO と結合する可能性が示された。興味深いことに、*fe-1* タイプの機能欠損型タンパク質を用いた場合においても、野生型 *FE* と同様に CO タンパク質と相互作用することを確認された。今後、CO と相互作用する HAP 複合体と *FE* との相互作用を検討することによって、*fe-1* 変異によって *FT* の転写活性が低下する原因が明らかにできるのではないかと期待している。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 3 件)

- ①Notaguchi M., Daimon Y., Abe M., Araki T. (2009) 「Adaptation of a seedling micro-grafting technique to the study of long-distance signaling in flowering of *Arabidopsis thaliana*.」 *Journal of Plant Research*, 122, 201-214. (査読あり)
- ②Notaguchi M., Daimon Y., Abe M., Araki T. (2009) 「Graft-transmissible action of *Arabidopsis* FLOWERING LOCUS T protein to promote flowering.□」 *Plant Signaling & Behavior*, 4, 123-125. (査読あり)
- ③阿部光知、荒木崇 (2009) 「花成を調節する長距離および短距離シグナル」植物の生長調節, 44, 128-134. (査読あり)

[学会発表] (計 8 件)

- ①平岡和久、阿部光知、遠藤求、荒木崇 “シロイヌナズナの側枝伸長におけるフロリゲン遺伝子 *FT* の機能” 日本植物生理学会 2011 年度年会、仙台 (2011 年 3 月 20～22 日)
- ②阿部光知、渡辺綾子、米田好文 “シロイヌナズナ花成制御因子 *FE* によるフロリゲン機能の制御機構” 日本植物生理学会 2011 年度年会、仙台 (2011 年 3 月 20～22 日)
- ③吉田昌泰、野田口理孝、大門靖史、佐々木陽平、阿部光知、遠藤求、荒木崇 “シロイヌナズナのフロリゲン *FT* 蛋白質の長距離伝達性の解析” 第日本植物学会第 74 回大会、春日井 (2010 年 9 月 9～11 日)
- ④阿部光知、渡辺綾子、米田好文 “シロイヌナズナ花成制御因子 *FE* によるフロリゲン機能の制御機構” 日本植物学会第 74 回大会、春日井 (2010 年 9 月 9～11 日)
- ⑤井村有里、小林恭士、山本純子、大門靖史、古谷将彦、阿部光知、田坂昌生、荒木崇 “シロイヌナズナ *CRYPTIC PRECOCIOUS* (*CRP*) 遺伝子の機能解析” 日本植物生理学会 2010 年度年会、熊本 (2010 年 3 月 18～21 日)

⑥吉田昌泰、野田口理孝、大門靖史、阿部光知、遠藤求、荒木崇 “シロイヌナズナのフロリゲン FT 蛋白質の長距離伝達性の解析” 日本植物生理学会 2010 年度年会、熊本 (2010 年 3 月 18～21 日)

⑦大門靖史、遠藤求、吉田昌泰、野田口理孝、小林俊賀、黒谷賢一、阿部光知、荒木崇 “フロリゲンの実体である FT 蛋白質の長距離作用の解析” 第 31 回日本分子生物学会年会、横浜 (2009 年 12 月 9～12 日)

⑧平岡和久、阿部光知、大門靖史、遠藤求、荒木崇 “フロリゲン遺伝子 FT の側枝伸長における役割” 日本植物学会第 73 回大会、山形 (2009 年 9 月 18～20 日)

[図書] (計 1 件)

①阿部光知 (2009) “春化と光周性-光周期応答能を発揮するために必要な長期の低温-” 『光周性の分子生物学』シュプリンガー・ジャパン pp. 65-76.

[その他]

ホームページ等

<http://www.biol.s.u-tokyo.ac.jp/users/iden/index.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

阿部 光知 (ABE MITSUTOMO)  
東京大学大学院理学系研究科・准教授  
研究者番号：20343238

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

なし