

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 2 日現在

機関番号：17601
研究種目：若手研究(B)
研究期間：2014～2016
課題番号：26850065
研究課題名(和文) 発熱植物ザゼンソウの温度受容機構におけるクロマチンサーモスタットモデルの検証

研究課題名(英文) Is a chromatin thermostat model applicable to the thermosensory response in thermogenic skunk cabbage?

研究代表者
稲葉 靖子 (Inaba, Yasuko)
宮崎大学・テニユアトラック推進機構・助教

研究者番号：80400191
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：発熱植物ザゼンソウの場合、低温を受容した後、発熱誘導という形で作用を発揮して、氷点下を含む寒冷環境下でも花の体温を20 前後に維持できる。本研究では、シロイヌナズナで見出された「クロマチンサーモスタットモデル」がザゼンソウにおける迅速な温度受容機構に適用できるのではないかと考え、ザゼンソウの温度受容と発熱応答をつなぐ機構の解明を目指して研究を行った。その結果、発熱前の花と活発に発熱する花のトランスクリプトーム比較解析により、発熱する花での発現が高い転写因子群が特定され、本研究のターゲット遺伝子FLOWERING LOCUS Tと類似した遺伝子プロファイルを持つ複数の転写因子の特定に成功した。

研究成果の概要(英文)：Floral thermogenesis has been found in dozens of primitive seed plants and the reproductive organs in these plants produce heat during anthesis. In this study, extensive database searches and cloning experiments suggest that thermogenic skunk cabbage (*Symplocarpus renifolius*), which is a member of the family Araceae, possesses two genes encoding phosphatidyl ethanolamine-binding proteins (PEBP), FLOWERING LOCUS T (SrFT) and MOTHER OF FT AND TFL1 (SrMFT). Functional analyses of SrFT and SrMFT in *Arabidopsis* indicate that SrFT promotes flowering, whereas SrMFT does not. Microarray analysis revealed that, within floral tissues, SrFT was co-regulated with the genes associated with cellular respiration and mitochondrial function, including ALTERNATIVE OXIDASE gene proposed to play a major role in floral thermogenesis. Taken together, these data suggest that, among the PEBP genes, SrFT plays a role in flowering and floral development in the thermogenic skunk cabbage.

研究分野：植物生化学

キーワード：植物 遺伝子 発現制御 呼吸 ミトコンドリア 発熱 温度受容

1. 研究開始当初の背景

発熱植物ザゼンソウは、開花直後から活発に発熱して、氷点下を含む外気温の変動にもかかわらず花の体温を 20 前後に保つことができる。このような恒温性は約 60 分の振動周期を繰り返しながら維持されており、ザゼンソウを低温にさらすと最初の 30 分間は体温が徐々に低下するが、30 分を過ぎると体温が上昇し始め約 1 時間後にはもとの体温にまで回復する。一連の現象は、ザゼンソウが温度変化を認識する重要な温度センサーをもつことを示唆するが、分子機構は明らかとされていなかった。

2. 研究の目的

温度は、植物の開花生理に様々な形で作用する。発熱植物ザゼンソウの場合、低温を受容した後、発熱誘導という形で作用を発揮して、氷点下を含む寒冷環境下でも花の体温を 20 前後に維持できる。加えて本植物は、温度受容から発熱応答に至る一連の反応が約 60 分と大変迅速に進むため、優れた温度センサーをもつことが示唆されてきたが、温度受容に絡む分子機構は依然として不明である。そこで本研究では、最近シロイヌナズナで見出された「クロマチンサーモスタットモデル」がザゼンソウ花成ホルモンの遺伝子プロモーター領域を介した迅速な温度受容機構に適用できるのではないかと考え、本モデルを基にザゼンソウの温度受容と発熱応答をつなぐ新規の転写因子を同定し、当該転写因子を中心とした分子ネットワークの解明を目指す。

3. 研究の方法

まず、発熱するザゼンソウの花から cDNA フラグメントライブラリーの調製を行い、FLX+ genome sequencer により 45 万リードのシーケンス解析を行った。得られた 35,000 contigs 配列の中から、FLOWERING LOCUS T(FT)および Mother OF FT AND TFL1 (MFT)のオルソログ遺伝子の探索を行い、得られた部分配列を基に、5'RACE 或いは 3'RACE 等を行い、最終的に、両遺伝子の全長配列を取得した。クローン化した FT および MFT の各遺伝子を 35S プロモーターに連結したプラスミドコンストラクトを作成して、Floral Dip 法によりシロイヌナズナへの形質転換を行った。形質転換体の解析は、全て T3 ラインを用いて行った。

4. 研究成果

ザゼンソウの持つ優れた温度センサーは、開花後の特定の成長ステージにおいて活発に働くことが示唆されている。そこでまず、発熱前の花と活発に発熱する花のトランスク

リプトームの比較解析を行った。その結果、発熱する花での発現が高い転写因子群が特定され、さらに本研究のターゲット遺伝子である FLOWERING LOCUS T(FT)と類似した遺伝子発現プロファイルを持つ複数の転写因子を特定することに成功した。加えて、FT 遺伝子と同じ遺伝子ファミリーに含まれる遺伝子の機能を調べるために、これらの遺伝子をシロイヌナズナに導入した形質転換体を作成して諸性質の検討を行った。その結果、作出した形質転換体は、野生株と比べて開花生理等に関する諸性質の違いが観察されたが、植物の熱現象に関わる遺伝子の発現については、野生型と同程度であった。

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 5 件)

Tokumaru, M., Adachi, F., Toda, M., Ito-Inaba, Y., Yazu, F., Hirosawa, Y., Sakakibara, Y., Suiko, M., Kakizaki, T., Inaba, T. (2016) Ubiquitin-proteasome dependent regulation of GLK1 in response to plastid signals in Arabidopsis. *Plant. Physiol.*, 173, 524-535. 査読有り. <http://dx.doi.org/10.1104/pp.16.01546>

Ito-Inaba, Y., Masuko-Suzuki, H., Maekawa, H., Watanabe, M., Inaba, T. (2016) Characterization of two *PEBP* genes, *SrFT* and *SrMFT*, in thermogenic skunk cabbage (*Symplocarpus renifolius*). *Sci. Rep.*, 6, article number: 29440. 査読有り. doi:10.1038/srep29440

Uehara, S., Adachi, F., Ito-Inaba, Y., Inaba, T. (2016) Specific and efficient targeting of cyanobacterial bicarbonate transporters to the inner envelope membrane of chloroplasts in Arabidopsis. *Front. Plant Sci.*, 7, article number: 16. 査読有り. <https://dx.doi.org/10.3389%2Ffpls.2016.00016>

Ito-Inaba, Y. (2014) Thermogenesis in skunk cabbage (*Symplocarpus renifolius*): New insights from the ultrastructure and gene expression profiles. *Adv. Hort. Sci.*, 28, 73-78. 査読有り. <https://www.researchgate.net/publication/289075361>

Okawa, K., Inoue, H., Adachi, F., Nakayama, K., Ito-Inaba, Y., Schnell, D.J., Uehara, S., Inaba, T. (2014) Targeting of a polytopic membrane

protein to the inner envelope membrane of chloroplasts in vivo involves multiple transmembrane segments. *J. Exp. Bot.*, 65, 5257-65. 査読有り.

<https://dx.doi.org/10.1093%2Fjxb%2Feru290>

〔学会発表〕(計 17 件)
発表者に を付した。

稲葉靖子、倉山侑也、溝口幸一郎、岡杏里砂、前川春彦、稲葉丈人
発熱植物ソテツ (*Cycas revoluta*) におけるシアン耐性呼吸酵素の解析
第 58 回 日本植物生理学会
2017 年 3 月 16 日-18 日、鹿児島大学(鹿児島県・鹿児島市) **口頭発表**

稲葉靖子
植物の花による熱産生-ザゼンソウとソテツの研究から見えてきた新視点-
第 1 回 Biothermology Workshop -生命システムの熱科学-、2016 年 12 月 10 日-11 日、岡崎コンファレンスセンター(愛知県・岡崎市) **招待講演**

前川春彦、稲葉靖子
サトイモ科発熱植物ザゼンソウ由来プロトプラストの調製と高効率形質転換法の確立
日本農芸化学会 西日本支部大会
2016 年 9 月 15 日-16 日、長崎大学(長崎県・長崎市) **口頭発表**

稲葉靖子、倉山侑也、溝口幸一郎、岡杏里砂、前川春彦、稲葉丈人
裸子植物ソテツ (*Cycas revoluta*) の発熱機構に関する研究
日本農芸化学会 西日本支部大会
2016 年 9 月 15 日-16 日、長崎大学(長崎県・長崎市) **口頭発表**

稲葉靖子、岡杏里砂、前川春彦、稲葉丈人

ソテツの発熱機構におけるミトコンドリアの役割：裸子植物と被子植物の相違について

日本植物生理学会 2016 年度年会
2016 年 3 月 18 日-20 日
岩手大学(岩手県・盛岡市) **口頭発表**

稲葉靖子
体温の調節ができる夢の植物を創る？
-ザゼンソウの発熱分子機構に関する研究-
第 38 回日本分子生物学会年会、第 88 回日本生化学大会 合同大会
2015 年 12 月 3 日
神戸ポートアイランド(兵庫県・神戸市) **招待講演**

稲葉靖子、増子潤美、前川春彦、渡辺正夫、稲葉丈人
発熱植物ザゼンソウにおける PEBP 遺伝子ファミリーの同定および解析
日本農芸化学会
2015 年 3 月 26 日-27 日
岡山大学(岡山県・岡山市) **口頭発表**

稲葉靖子、増子潤美、渡辺正夫、稲葉丈人
フロリゲンに着目したサトイモ科発熱植物ザゼンソウの開花生理に関する研究
園芸学会春季大会
2015 年 3 月 29 日
千葉大学(千葉県・千葉市) **ポスター発表**

〔図書〕(計 1 件)

Sato, M., and Ito-Inaba, Y. Mitochondria of thermogenic skunk cabbage. T. Noguchi, S. Kawano, H. Tsukaya, S. Matsunaga, A. Sakai, I. Karahara, Y. Hayashi, eds. "Atlas of Plant Cell Structure", Springer, 2014.

〔産業財産権〕

出願状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

http://www.miyazaki-u.ac.jp/ttkikou/tt-res/y_inaba/

6. 研究組織

(1) 研究代表者

稲葉 靖子 (Inaba, Yasuko)

宮崎大学・テニユアトラック推進機構・
TT 助教

研究者番号：80400191

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()