

ついに明かされた「フロリゲン」の正体

奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科 玉置 祥二郎, 島本 功

1. 花芽形成研究の歴史

植物の多くは日の長さ(日長)に応答してさまざまな反応を示す。植物が季節ごとに変化する日長に応じて反応を示すことを光周性反応とよぶ。植物の光周性反応のひとつに、花芽形成の誘導があげられる。

植物が日長の変化を認識して花芽形成を起こすことが、1920年にGarnerとAllardにより報告された。さらに彼らはさまざまな植物を用いて日長と花芽形成誘導の関係を調べ、植物を日長に対する応答の違いから3種類に分類できることを発見した。すなわち、一日のうち明期の長さが一定時間以上で花芽形成が起こる長日植物、暗期の長さが一定時間以上で花芽形成が起こる短日植物、そして日長に反応しない中性植物である。長日植物に分類されるものには、シロイヌナズナ、ホウレンソウ、コムギといった植物があげられ、短日植物にはイネ、キク、シソなどがあげられる。また中性植物にはトウモロコシやトマト、キュウリなどが含まれる。

植物が日長に反応して花芽形成を含めた光周性反応を示すことが明らかとなったが、植物がどこで日長の違いを感受しているかが明らかとなったのは1930年代のことである。

種子から発芽した後につくられる葉、茎、花といった地上部は、茎の先端に位置する茎頂分裂組織とよばれる組織から生じたものである。この茎頂にある分裂組織の側生器官が葉から花芽をつくり始めることにより花芽形成が起こる。1934年にKnottは長日植物であるホウレンソウを用いて、ホウレンソウの葉にのみ長日処理を行った場合と、実際に花芽が形成される茎頂に長日処理を行った場合のどちらで花芽形成が誘導されるかを確認した。実験の結果、葉に長日処理を行った場合のみ花芽形成が誘導され、茎頂に長日処理を行っても花芽形成は誘導されないことが明らかとなった。これとほぼ同様の実験の結果が1936年にChailakhyanにより報告された。彼は短日植物であるキクを用いてKnottと同様の解析を行い、やはり植物が日長を感受する場は葉であることを確認した。さらに彼は、植物が日長を感受

する場である葉と、花芽形成が起こる茎頂が、空間的に離れていることから、葉でつくられた物質が茎頂分裂組織まで移動し、花芽形成を誘導すると考えた。彼はこの物質をフロリゲンと名づけた。

植物において葉から茎頂へ移動し、花を咲かせる物質(フロリゲン)の存在を強く示唆する結果が、おもに接木実験により得られている。短日植物であるシソを用いた実験では、花芽形成が誘導される短日条件で育てた植物から取った葉を、長日条件で育てている植物に接いだところ、花芽形成が誘導された。またタバコには長日植物に分類される種と短日植物に分類される種が存在する。長日植物に属する種の葉を短日植物に属する種に接いだ後、長日条件においたところ、短日植物の種においても花芽形成が促進された。これらの結果からも花芽形成が誘導される条件におかれた葉から茎頂へと花芽形成を促進させる物質すなわちフロリゲンが移動すると考えられる。

フロリゲンがどのようにして葉から茎頂へと運ばれているかを確認した実験が、1976年にZeevaartにより行われた。接木処理によって接いだシソの葉から接木面を介して台木である植物へと移動する花成刺激の移動は、 ^{14}C で標識された同化産物の転流と高い相関性を示し、その移動には接木面において維管束がつながっていることが必要であった。

フロリゲンの存在を示唆する実験の結果が多く得られたことから、花成誘導を引き起こす日長条件においた植物の葉からフロリゲンを抽出しようとする試みが多く研究者たちによって行われた。いくつかの実験の結果、そうした抽出物により花芽形成を誘導することが報告されたが、それらの結果はどれも再現性が乏しいものだった。

1990年代に入り、長日植物であるシロイヌナズナを用いて、分子遺伝学的解析から光周性花成経路を分子レベルで理解しようとする試みが行われた。シロイヌナズナに突然変異が生じるような処理を施した後、長日条件においても花芽形成が野生型に比べて遅れるものや、短日条件においても花芽形成が

早くなるような表現型を示す変異体の解析が行われた。その結果、見いだされたのが *Flowering Locus T(FT)* 遺伝子である。この遺伝子に変異が生じた変異体の表現型は1991年にKoornneefらによって報告され、この変異体は長日条件においても花芽形成が野生型よりも遅れることが報告されていた。1999年には、*FT* 遺伝子の分子生物学的な特徴が明らかにされた。*FT* 遺伝子は、シロイヌナズナの花芽形成が促進される長日条件でのみ発現が誘導される。この遺伝子がコードしているタンパク質はホスファチジルエタノールアミン結合タンパク質(PEBP)と弱い相同性を示し、ほかのタンパク質と相互作用して下流にシグナルを伝えていると考えられている。さらにこの遺伝子をシロイヌナズナで過剰に発現させると、日長にかかわらず、野生型よりも顕著に花芽形成の促進が見られた。しかしこの *FT* 遺伝子のシロイヌナズナにおける発現を詳細に解析したところ、*FT* 遺伝子は葉の維管束組織周辺にのみ発現していることが明らかとなった。この *FT* 遺伝子がどのようにシロイヌナズナの花芽形成を促進しているかは最近まで不明であったが、2005年に *FT* タンパク質が茎頂分裂組織で *FD* タンパク質と相互作用することで、花芽形成を誘導していることが報告された。この結果は、葉でのみ発現が確認されている *FT* 遺伝子がコードするタンパク質が茎頂分裂組織で機能していることを示している。長日植物であるシロイヌナズナを用いて光周性花芽形成のしくみが明らかにされていく中、ゲノム解析が行われたイネを用いて短日植物の光周性花成経路を分子遺伝学的に解明する研究も行われた。イネの花成時期の品種間差を決定する量的形質遺伝子座の解析が行われ、同定された遺伝子の中に *Hd3a* 遺伝子がある。この遺伝子は、イネの花芽形成が促進される短日条件でのみ特異的に高い発現を示し、その過剰発現体では花芽形成が顕著に促進されることが明らかとなった。この遺伝子がコードしているタンパク質は、前述したシロイヌナズナの *FT* 遺伝子と高い相同性を示すことが報告されている。この結果は短日植物と長日植物の間で、花芽形成を促進させる物質が共通であることを示している。その後シロイヌナズナとイネだけでなく、ほかの植物においても *FT/Hd3a* タンパク質と高い相同性を示すタンパク質をコードしている遺伝子が、その植物の花芽形成の促進に関与し

ていることが報告された。

多くの植物において花芽形成を促進させる機能が高く保存されていること、植物の花芽形成が促進される日長条件でのみ発現が誘導されること、葉の維管束でのみ発現している遺伝子がコードしているタンパク質が茎頂分裂組織において機能していることなどから、*FT/Hd3a* 遺伝子がフロリゲンの実体をコードしているのではないかと考えられるようになっていった。

2. フロリゲンの正体は *FT/Hd3a* タンパク質

今回われわれは、イネの開花促進遺伝子である *Hd3a* がイネにおいてどのように花芽形成を促進するのかをより詳細に明らかにするための解析を行った。われわれの研究室では、イネの光周性花成経路において機能する遺伝子の制御様式を明らかにしている。短日条件下においてイネの花芽形成が促進される原因は、*Hd3a* 遺伝子の発現が誘導されるためであり、逆に長日条件では *Hd3a* 遺伝子の発現が抑制されることが原因であることを明らかにした。また、短日植物の日長による花成制御の生理的反応のひとつとして知られている光中断処理による花成遅延の原因も明らかにした。すなわち、暗期の中央において光を照射することで、*Hd3a* の発現が転写レベルで抑制されることが花成遅延の原因であることを明らかにしている。さらには、*Hd3a* の過剰発現体が早咲きの表現型を示すことから、*Hd3a* がイネの花芽形成において重要な役割を果たしていることは明らかであり、その機能を詳細に解析することは急務であった。

われわれが研究を進めていく中で、*FT* の発現産物である *FT*mRNA がフロリゲンではないかと報告されたが、その後トマトを用いた解析の結果が報告され、*FT*mRNA はトマトにおいては葉から茎頂へと移動しないとの結果が報告された。また師管を流れる師管液に含まれるタンパク質を解析した結果、*FT* タンパク質と高い相同性を示すタンパク質が含まれていることが報告されたこともあり、イネにおいて *Hd3a* の mRNA もしくはタンパク質のいずれが、あるいはその両方が花芽形成の促進に関与しているのかを明らかにすることが急務となった。

われわれは、まずイネの花芽形成が誘導される短日条件において *Hd3a* mRNA がイネのどの組織で発

現しているかを詳細に解析した。その結果、*Hd3a* mRNA はイネの葉でのみ発現していることが明らかとなった。そのほかの組織、特に茎頂分裂組織では *Hd3a* mRNA はほとんど検出されないことから、*Hd3a* はイネの葉で特異的に発現していると考えられた。次に、*Hd3a* が葉のどの部分で発現しているかを確認するために、*Hd3a* のプロモーター（発現を制御する領域）に、*GUS* 遺伝子とよばれるレポーター遺伝子をつなげたものをイネに導入し、形質転換体をつくった。この形質転換体のある試薬で染色すると、*GUS* 遺伝子が発現している場所が青く染まり、目でその発現場所を確認することが可能となる。この形質転換体において青く染まった場所を調べると、維管束組織の師部周辺で特異的に青く染色されていることが確認された。このことから、*Hd3a* は葉の維管束の師部周辺でのみ発現していることが明らかとなった。

イネにおける *Hd3a* の発現の特異性を確認したので、次に *Hd3a* タンパク質がイネのどこに存在し、どのような制御を受けているかを観察した。*Hd3a* 遺伝子に、蛍光タンパク質をコードしている *GFP* 遺伝子をつなげ、これを *Hd3a* のプロモーター領域につないだものを植物に導入し形質転換体をつくった。この植物体は、野生型に比べて、短日条件下でわずかに早い花芽形成の促進が見られた。この植物体において *Hd3a* タンパク質に *GFP* タンパク質をつなげた融合タンパク質が、花芽形成の促進に効果をもつことが確認できたので、この植物体の茎頂分裂組織の縦断切片を作製し、レーザー蛍光顕微鏡で観察を行った。その結果、*Hd3a* と融合している

GFP タンパク質の蛍光が、茎頂分裂組織において観察された(図1)。*Hd3a* のプロモーター領域は維管束でのみ発現を制御できることや、茎頂分裂組織に維管束は存在しないこと

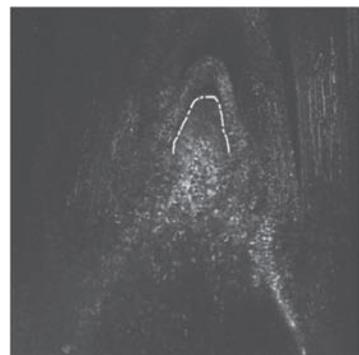


図1 レーザー蛍光顕微鏡による茎頂分裂組織の観察写真。白く見えているものが *Hd3a*-*GFP* タンパク質。破線で囲った領域が茎頂分裂組織。

から、今回観察された蛍光タンパク質は維管束から運ばれたものであると考えられた。

これらの一連の解析結果から、イネにおいて *Hd3a* は短日条件におかれたイネの葉で特異的に発現し、タンパク質へと翻訳された後、茎頂分裂組織まで運ばれることでイネの花芽形成を促進していると考えられる(図2)。

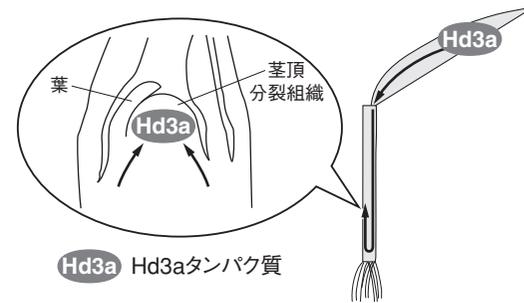


図2 イネにおける *Hd3a* タンパク質の挙動。葉で発現した *Hd3a* はタンパク質へと翻訳された後、師部を通して茎頂分裂組織へと運ばれる。

また同時期に、ドイツのマックスプランク研究所のグループにより、シロイヌナズナの *FT* 遺伝子も *Hd3a* 同様に、タンパク質としてシロイヌナズナの花芽形成を促進していることを示す結果が報告された。

そしてわれわれやドイツのグループによる *Hd3a* および *FT* の解析の結果明らかになったことや、これまでに報告されていた結果から、*FT/Hd3a* が示す性質および特徴が、これまで報告されてきたフロリゲンの性質および特徴と一致することが示された。これらの研究結果より、*FT/Hd3a* 遺伝子がコードするタンパク質こそがフロリゲンの実体ではないかと考えられるようになった。

3. 今後の研究課題および展望

今回 *FT/Hd3a* タンパク質がフロリゲンの実体であることが示唆されたが、このタンパク質については、不明な点はまだ数多く残っている。たとえば、このタンパク質は葉から茎頂分裂組織へと運ばれることが示されているが、その移動経路および移動方法などはほとんど明らかとなっていない。維管束の師部周辺でのみ発現していることから、師部を通して運ばれていると考えられているが、移動する機構、また移動する際に必要となる相互作用するタンパク質などは不明であり、今後の課題といえる。また、

FT/Hd3a タンパク質が花芽形成を促進させることは明らかであるが、移動してきた *FT/Hd3a* タンパク質が茎頂分裂組織において、どのように花芽形成を促進させているかも不明な点が多く、今後さらなる解析が必要である。

また、最近の報告では *FT/Hd3a* 遺伝子は花芽形成だけでなく、植物の生長や形づくりに関するほかのさまざまなことに影響を及ぼすことが報告されている。このことは *FT/Hd3a* タンパク質の機能が花成促進だけではないことを示唆しており、より詳細な機能の解析が今後必要になると思われる。

これまで植物において、花が咲くことを人為的に直接コントロールすることは困難であった。また、たとえできたとしても、その手法は普遍的なものではなく、ある特定の植物にのみ有効と思われる手法ばかりであった。今回フロリゲンの実体が *FT/Hd3a* タンパク質である可能性が高いことが示された。*FT/Hd3a* タンパク質は、イネおよびシロイヌナズナだけでなくほかの植物においても同様に花芽形成を促進する機能をもっていることが示されているため、このタンパク質を精製することができれば、普遍的な花成誘導物質として使用することが可能になると思われる。また、*FT/Hd3a* タンパク質が花芽形成を促進させるしくみが明らかとなれば、それを人為的に阻害することで、花芽形成を遅らせることも可能になると思われる。このように、花芽形成を人為的にコントロールすることは、より効率のよい食料生産や花卉生産の省コスト化にもつながると考えられる。さらには夢とされている「いつでもほしいうちに花を咲かせる」ということが、いつか現実となるかも知れない。

参考文献

1. S.Tamaki, S.Matsuo, H.L.Wong, S.Yokoi, and K.Shimamoto, *Science*, 316, 1033-1036. (2007).
2. L.Corbesier, C.Vincent, S.Jang, F.Fornara, Q.Fan, I.Searle, A.Giakountis, S.Farrona, L.Gissot, C.Turnbull and G.Coupland, *Science*, 316, 1030-1033. (2007)
3. 瀧本敦『花を咲かせるものは何か—花成ホルモンを求めて』(中央公論社, 1998)