

花成ホルモン(フロリゲン)の同定と植物制御への応用

島本 功

Laboratory of Plant Molecular Genetics
Nara Institute of Science and Technology (NAIST)

奈良先端科学技術大学院大学

様々な時期に花を咲かせる植物たち

さくら



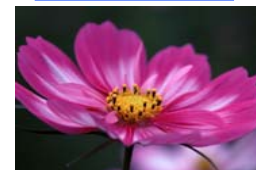
チューリップ



アサガオ



コスモス



1月 2月 3月 4月 5月 6月 7月 8月 9月 10月 11月 12月

ウメ



ラベンダー



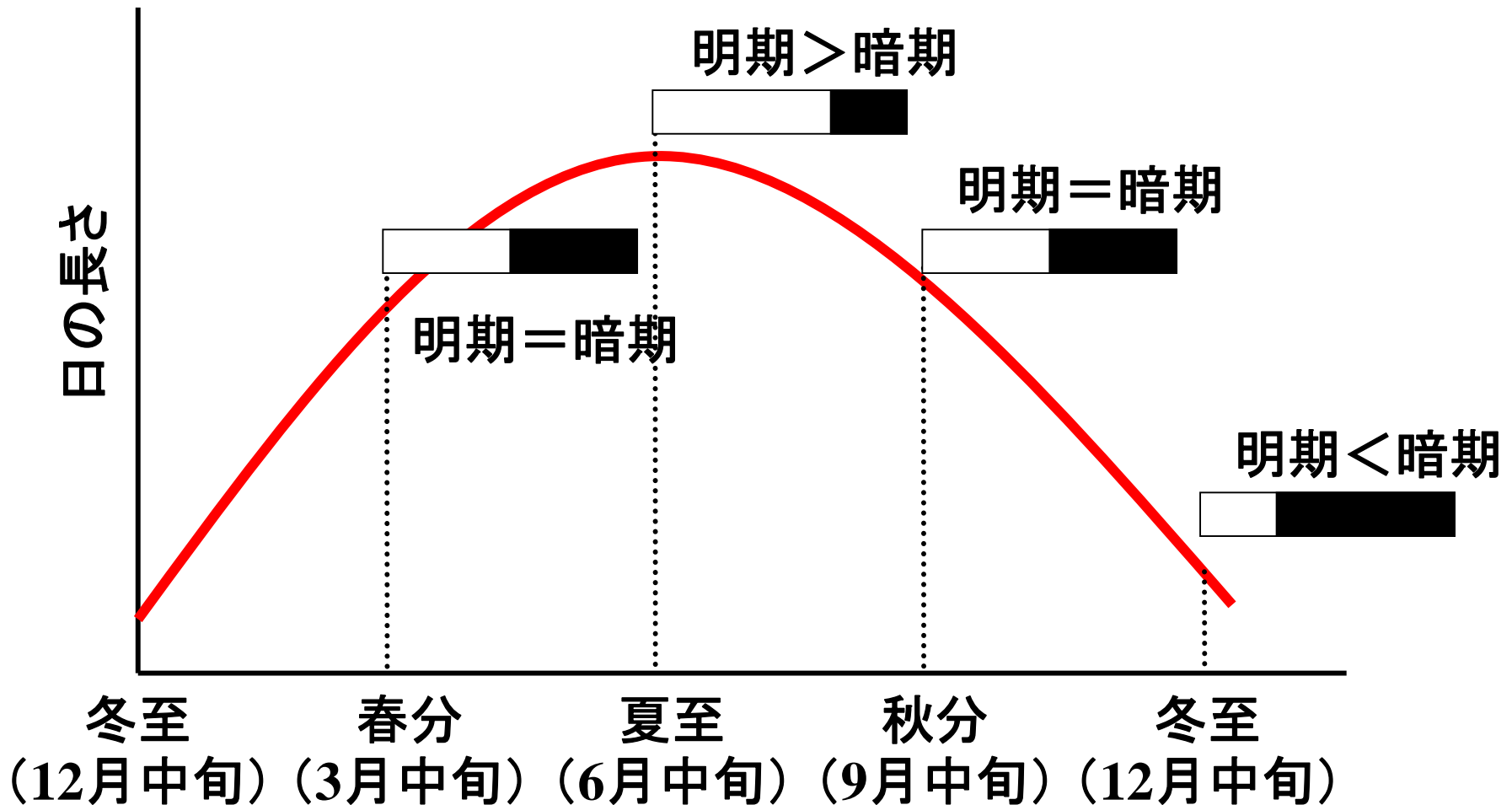
菊



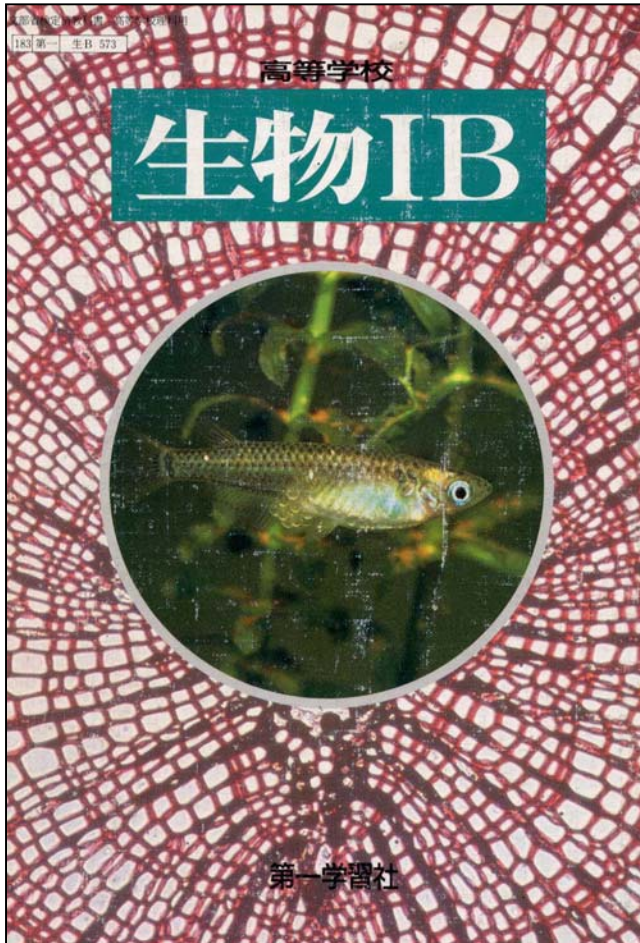
さざんか

四季のある日本では、一年間を通して様々な花を見ることが出来ます。
しかし、これらの植物たちは、どのようにして決まった季節に花を咲かせることが出来るのでしょうか？

日本における日長の変化



植物は季節が判る



高校生物教科書
 生物IB 第一学習社 P. 234

が調節されている。

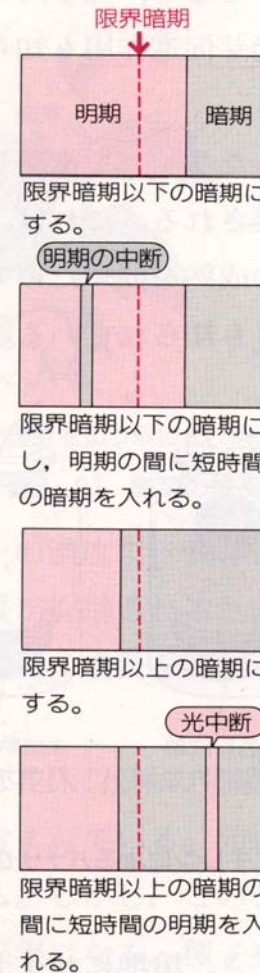
●花芽の形成と光

ナタネの花は春に咲き、コスモスの花は秋に咲く。

これは、植物が1日のうちの昼間(明期)と夜間(暗期)の長さの影響を受けて花芽を形成する性質をもっているためと考えられる。このように生物が明期と暗期の影響を受けて反応する性質は光周性といわれる。

花芽形成における光周性は、明期よりも暗期の長さによって支配されることが知られている。このため、春に開花する植物は、明期の長さにかか

わらず、暗期が一定の長さ(限界暗期)以下にならないと花芽を形成しない長日植物(オオムギ・ホウレンソウ・ダイコン・ショウブなど)が多い。これに対して、秋に開花する植物は、限界暗期以上の連続した暗期が与えられないと花芽を形成しない短日植物(アサガオ・ダイズ・キクなど)が多い。また、トマト・トウモロコシなどのように、光周性を示さない中性植物もある。











長日植物	短日植物
 開花する	 開花しない
 開花する	 開花しない
 開花しない	 開花する
 開花する	 開花しない

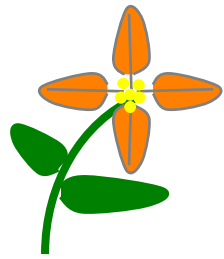
図5-33 暗期の長さとお花芽の形成

短日植物と長日植物の日長認識の違い

長日植物

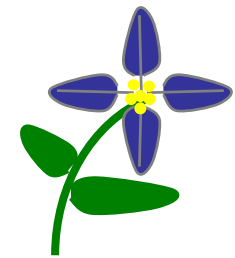
短日植物

長日条件(春分～夏至)



明期 > 暗期

短日条件(秋分～冬至)



明期 < 暗期

ダイコン



ほうれん草



アサガオ



イネ



光周性

植物が、花を咲かせるために必要な明暗の周期に反応する現象を**光周性**という。

短日植物は、ある一定時間以上の連続した暗期を花を咲かせるために必要とする。

長日植物では長い暗期はかえって花芽形成を妨げる。

長日植物と短日植物との代表選手

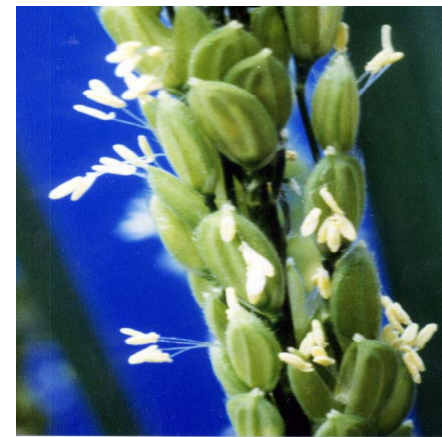
長日植物

シロイヌナズナ
Arabidopsis thaliana



短日植物

イネ
Oryza sativa L



両者の日長への反応の違いは？
開花の仕組みは同じ？

開花関連遺伝子は保存されているがその制御に違いがある

シロイヌナズナ
(長日植物)

イネ
(短日植物)

長日条件

長日条件

短日条件

GI

OsGI

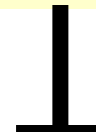
OsGI



CO

Hd1

Hd1



2つの
機能



FT

フロリゲン

Hd3a

Hd3a

開花誘導

開花遅延

開花誘導

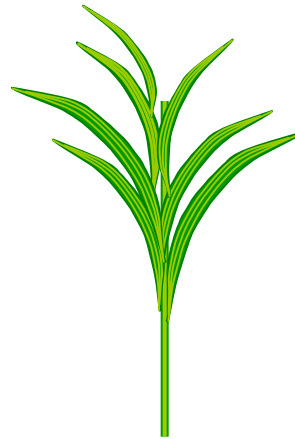
花成ホルモン(フロリゲン)

花成：栄養生長から生殖生長へ

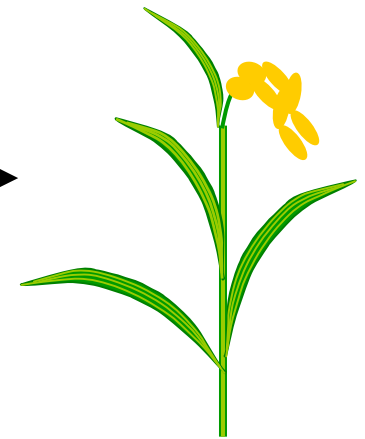
発芽後の植物の地上部は茎の先端にある茎頂分裂組織で作られる。

植物が栄養生長から生殖生長へと移行する際に、茎頂分裂組織から作られる側生器官が葉から花芽へと変化する。この花芽形成の開始を**花成**と呼ぶ

栄養生長

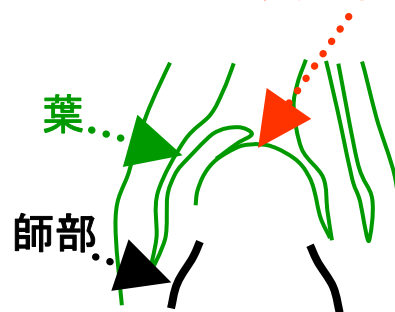


生殖生長



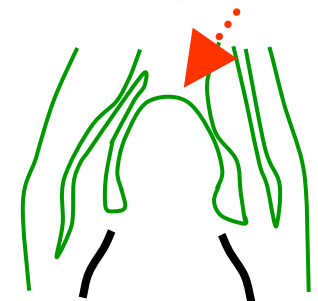
花成

茎頂分裂組織



栄養生長

花序分裂組織



生殖生長

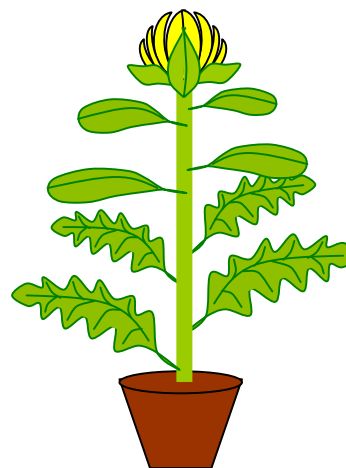
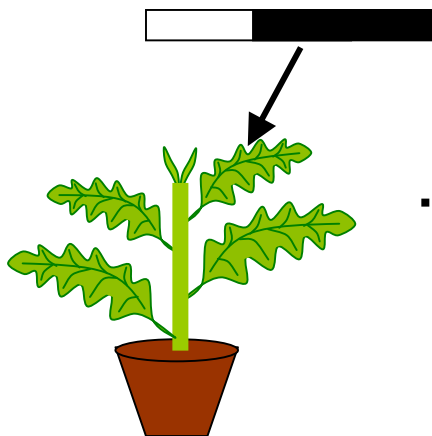


花成

植物が日長を感じる部位は葉である

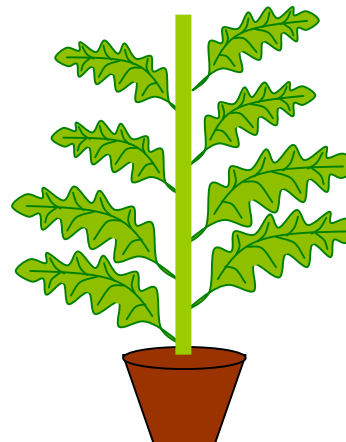
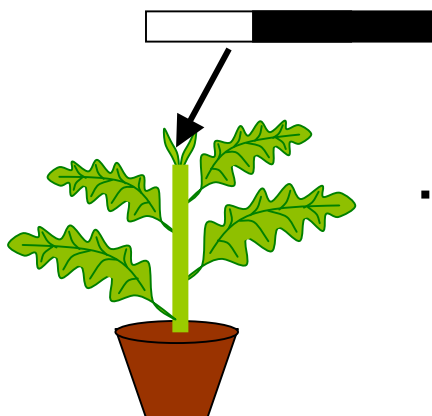
花成

葉に短日処理をする



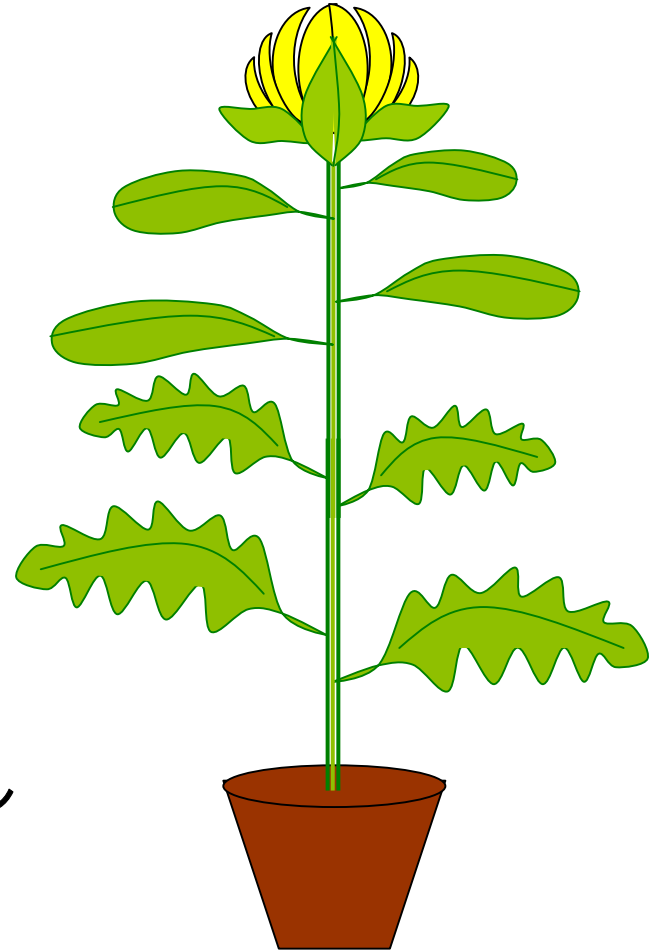
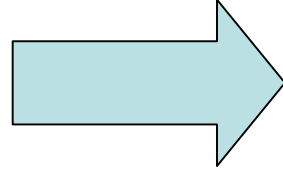
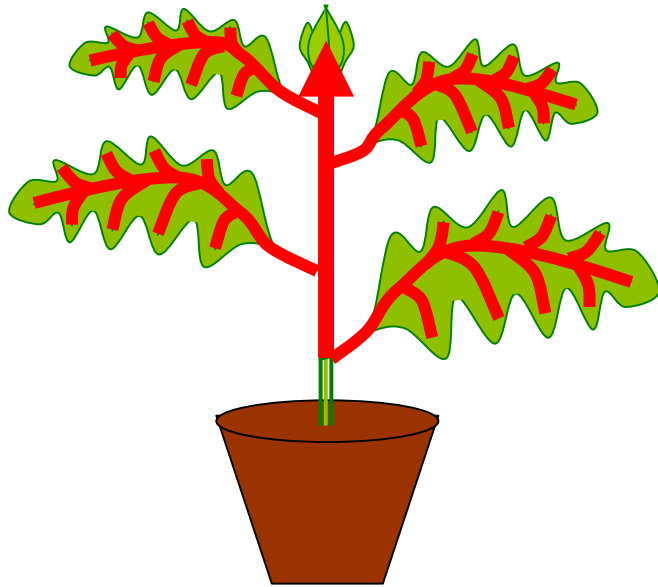
誘導される

茎頂に短日処理をする



誘導されない

花成ホルモン(フロリゲン)



— フロリゲン

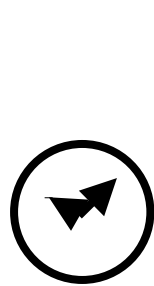
花成ホルモン(フロリゲン):6つの条件

- ① 花成が誘導される日長条件に置かれた植物の葉において作られる。
- ② 花成を誘導する。
- ③ 師管を通して移動する。
- ④ 茎頂分裂組織に運ばれる。
- ⑤ 接木間を伝わる。
- ⑥ 長日植物と短日植物において共通である。

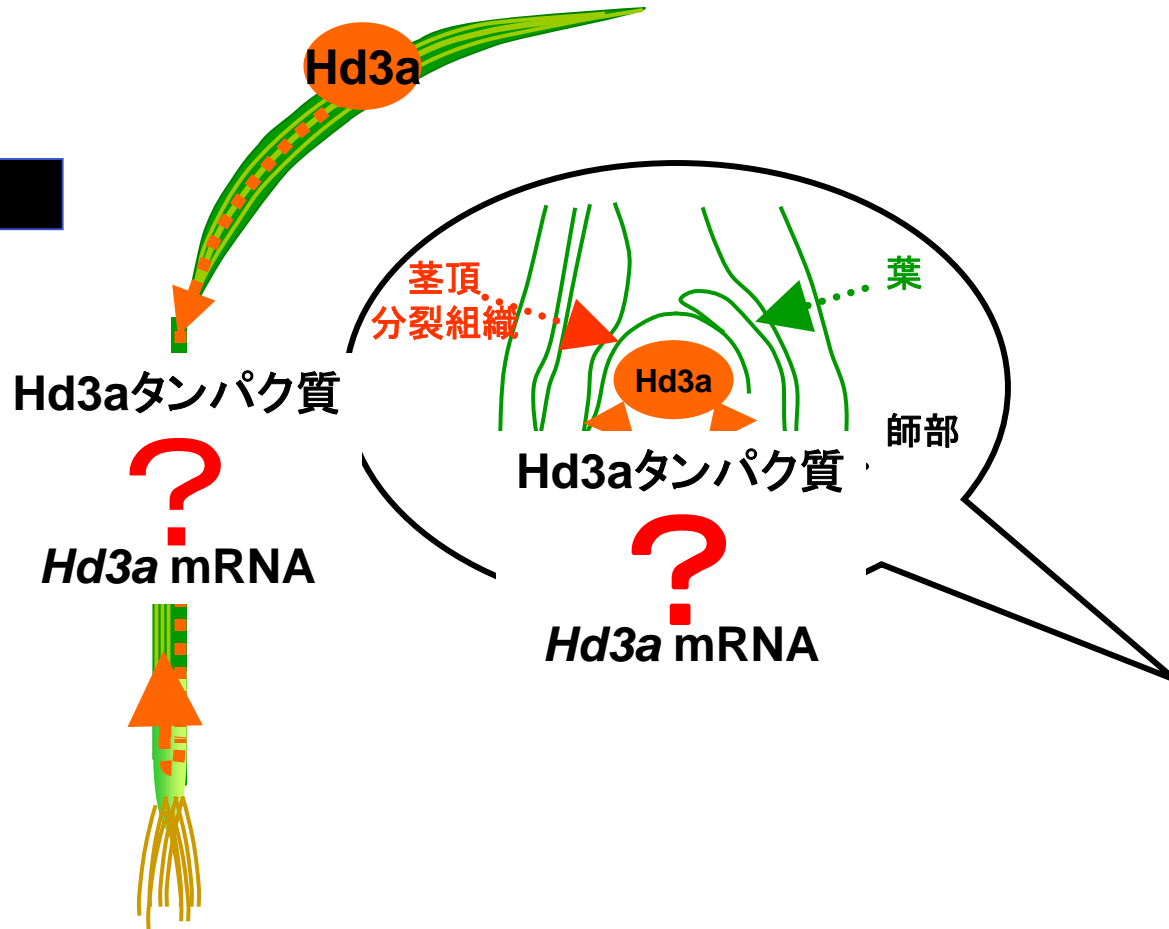
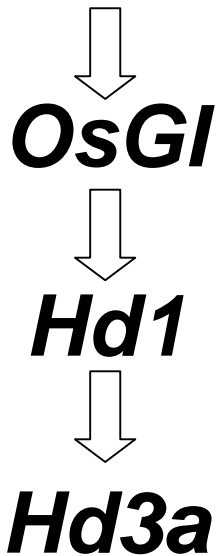
フロリゲン研究の歴史

- ・ Chailakhyan 1936 接ぎ木実験の結果から提唱。
- ・ 多くの植物生理学者による精製の試み—不成功に終わる。
- ・ シロイヌナズナの分子遺伝学—FT 遺伝子がフロリゲンをコードする可能性が最近出てきた。
- ・ 2005 Abe et al. Wigge et al. FTのパートナーFDは茎頂で発現、FTは葉で発現、つまりFTは葉から茎頂へ移動する必要がある。
- ・ 2005 Huang et al. ヒートショックプロモーターを用いて葉でFTを発現させFT mRNAの移動を報告。後に誤りであることがわかる (2007)
- ・ 2006 Lifshitz et al. FT mRNAは接ぎ木を通じた移動なしと報告。
- ・ FTタンパクは葉から茎頂へ移動するのか？
- ・ FT mRNAは本当に移動するのか？

Hd3a 遺伝子はどのようにしてイネの花成を促進しているのか？



短日条件



イネの開花促進遺伝子 *Hd3a*

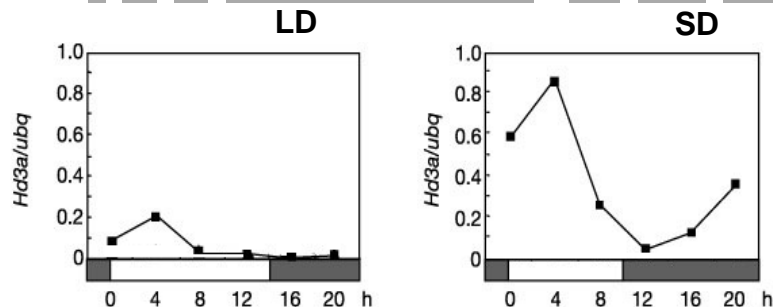
- *Hd3a* はイネの出穂にかかわるQTLの一つとして特定された。
- *Hd3a* 遺伝子がコードしているタンパク質はシロイヌナズナの花成統合因子 *FT* と高い相同性を示す。
- *Hd3a* は短日条件で特異的に発現が誘導される。
- *Hd3a* をイネにおいて過剰発現させると早咲き表現型を示す。

```

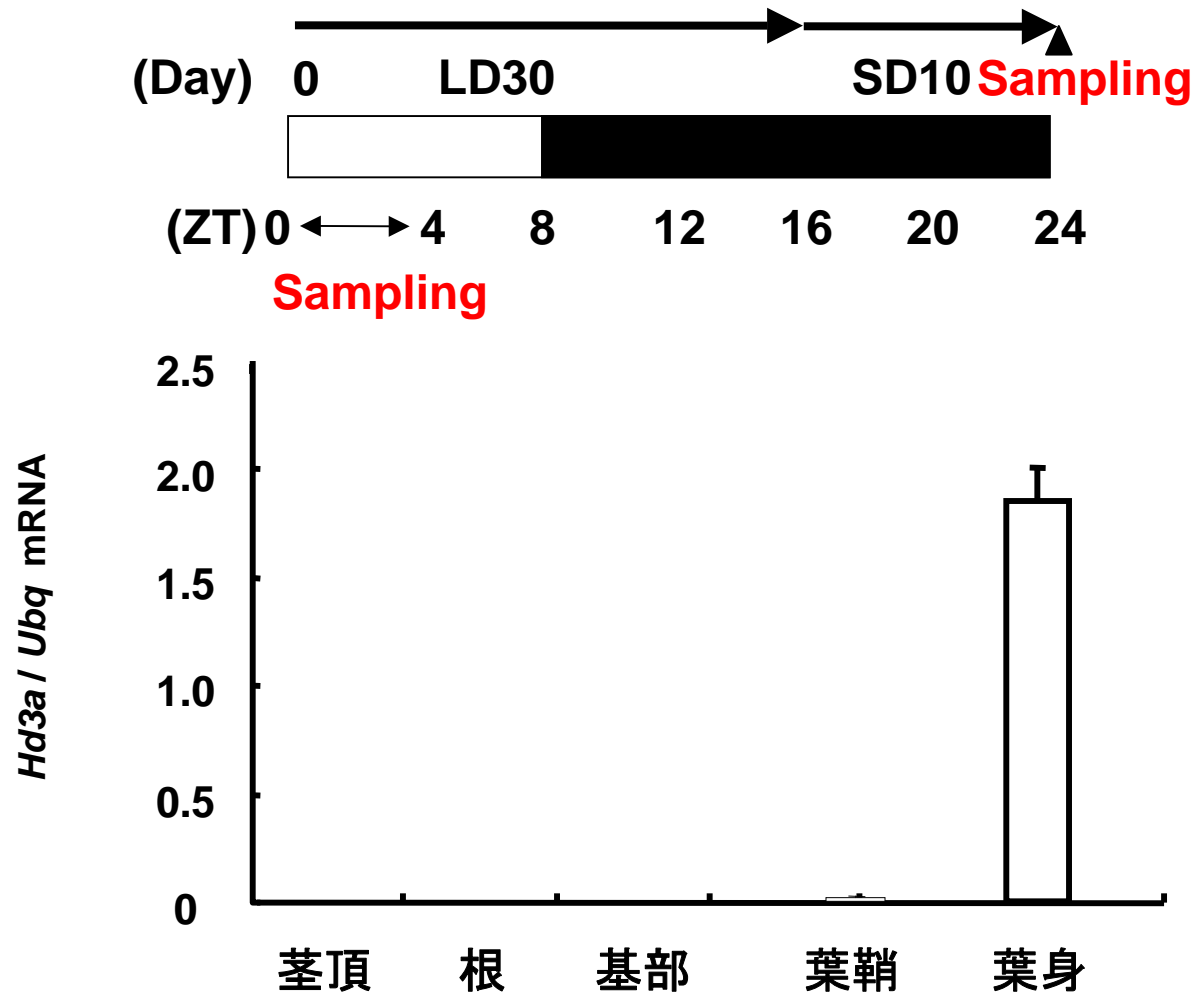
      . . . . .10 . . . . .20 . . . . .30 . . . . .40 . . . . .50 . . . . .60
FT   1: MSI N. . I RDPLI VSRVVGDVLDPFNRSI TLKVTYGQREVTNGLDLRPSQVQNKPRVEI GG 58
Hd3a 1: MAGSGRDRDPLVVGRVVGDVLDAFVVRSTNLKVTYGSKTVSNGCELKPSMWITHQPRVEVGG 60

      . . . . .70 . . . . .80 . . . . .90 . . . . 100 . . . . 110 . . . . 120
FT   59: EDLRNFYTLVM/DPDVSPSPNPHLREYLHVLVTDI PATTGTTFGNEI VCYENPSPTAGI H118
Hd3a 61: NDMRTFYTLVM/DPDAPSPSPDNLREYLHVLVTDI PGTTAASFGQEVMCYESPRPTMGI H120

      . . . . 130 . . . . 140 . . . . 150 . . . . 160 . . . . 170 . . . .
FT   119: RVVFI LFRQLGRQTVYAPGWRQNFNTREFAEI YNLGLPVAAVFYNCQRESGCGRRRL . . :175
Hd3a 121: RLVFVLFQQLGRQTVYAPGWRQNFNTKDFAEI YNLGSPVAAVFYNCQREAGSGGRRVYP:179
  
```



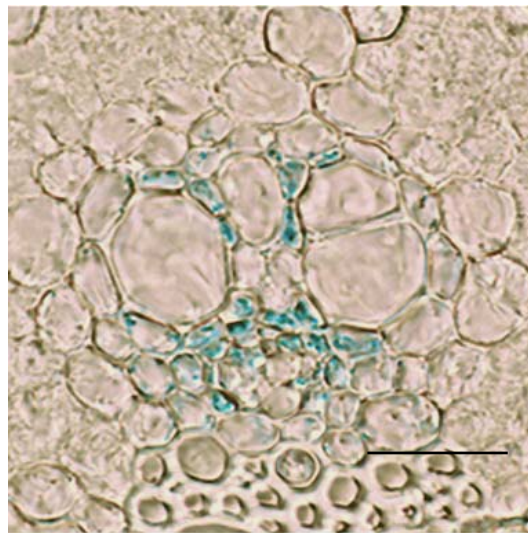
Hd3a mRNAは茎頂ではほとんど検出されない



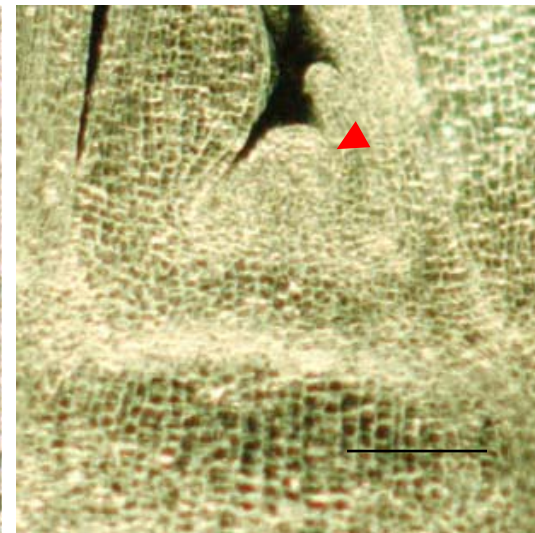
Hd3a は維管束特異的な発現を示す



葉身



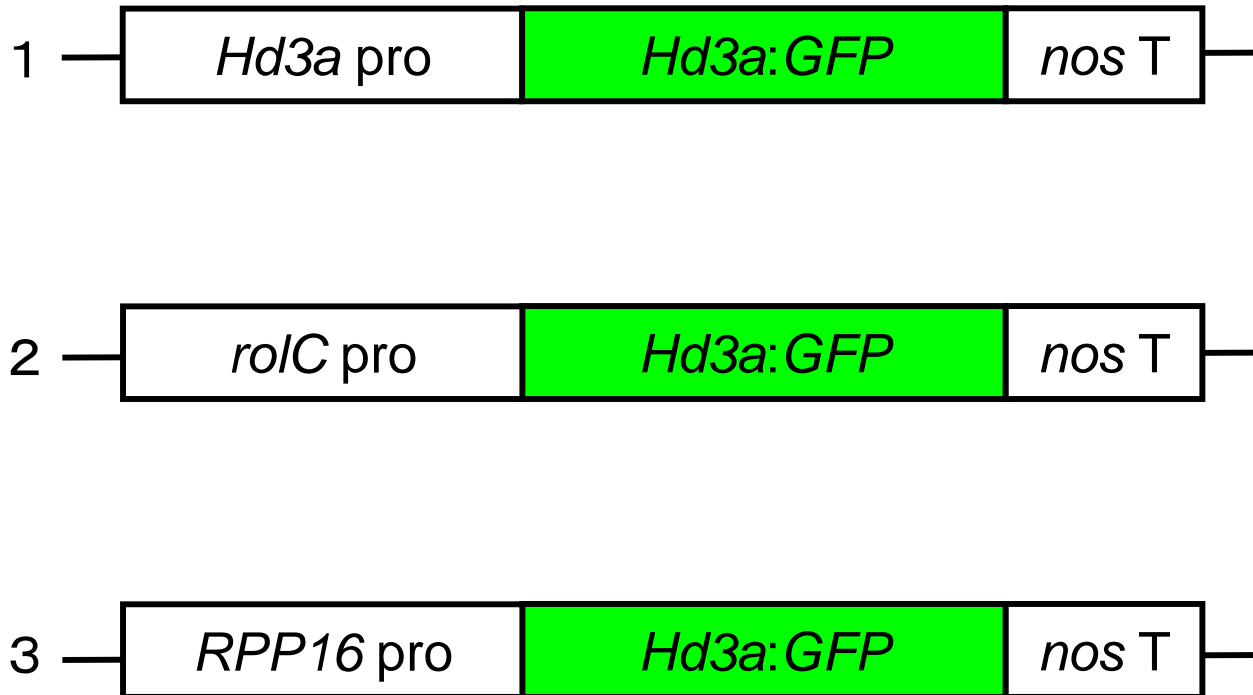
葉身横断切片



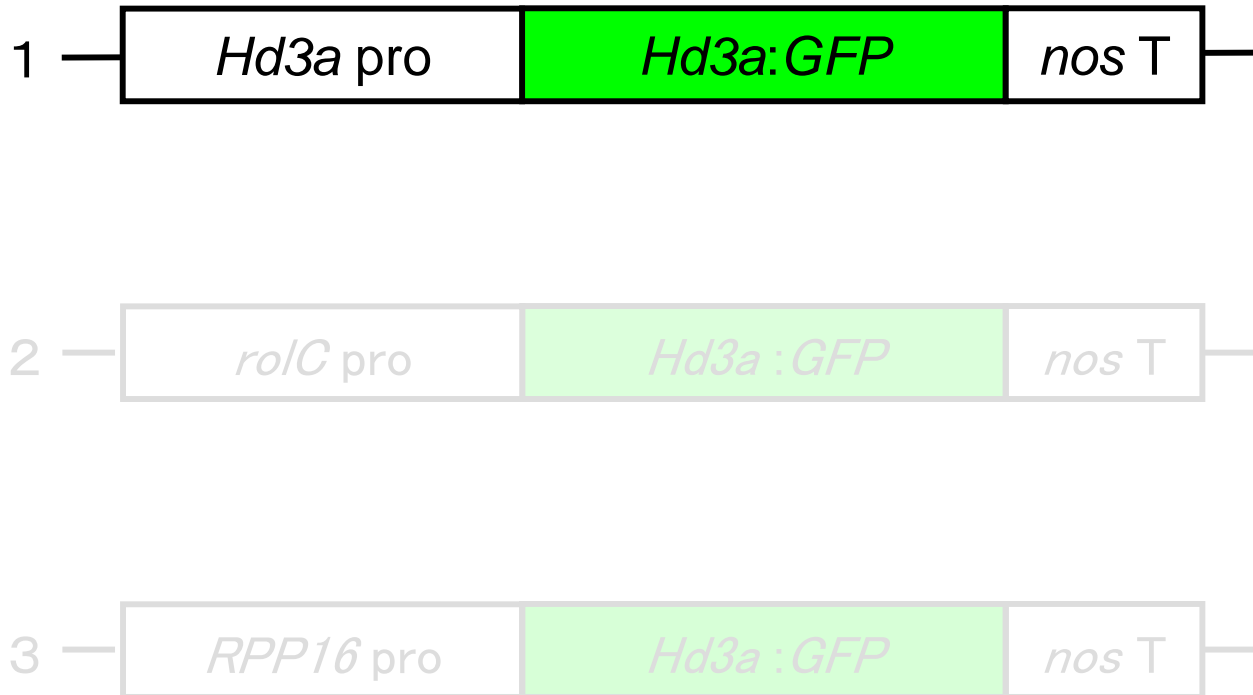
茎頂

▲ arrow head : 茎頂分裂組織

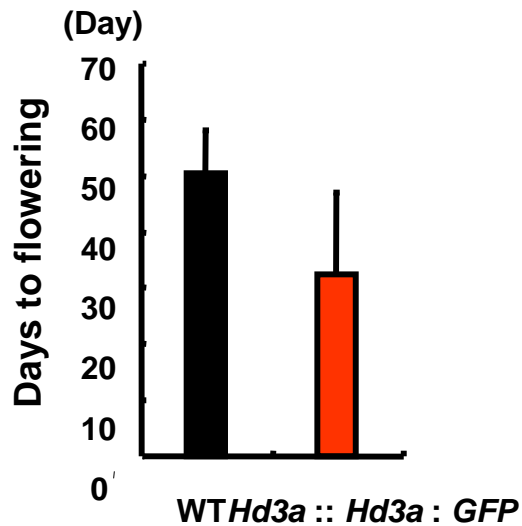
解析に用いた合成遺伝子



解析に用いた合成遺伝子



Hd3a::Hd3a:GFP 形質転換体は早咲きになる



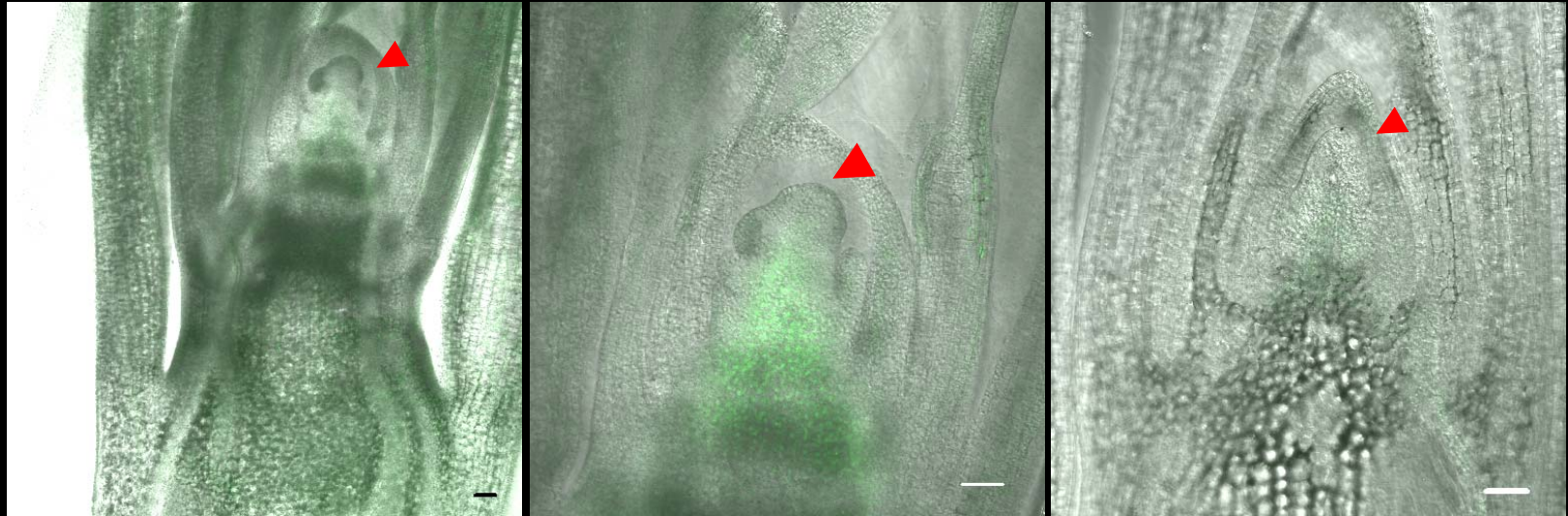
短日条件下における
出穂(開花)日



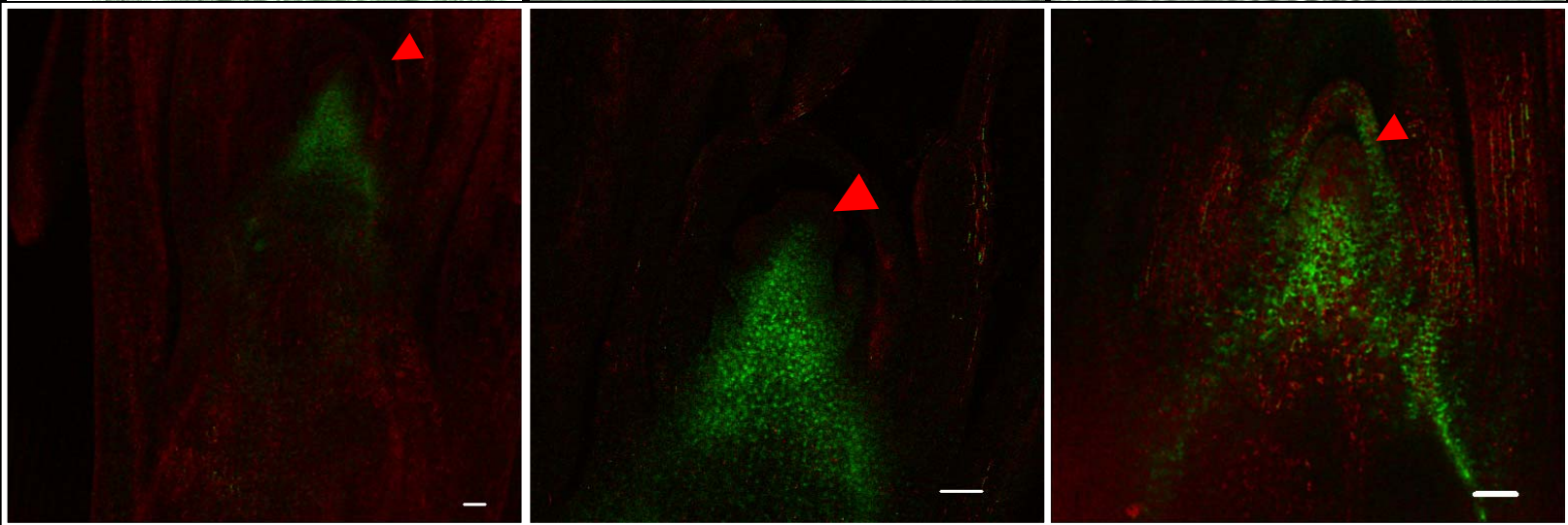
Hd3a::Hd3a:GFP

Hd3a:GFPは茎頂において観察される

明視野 + GFP

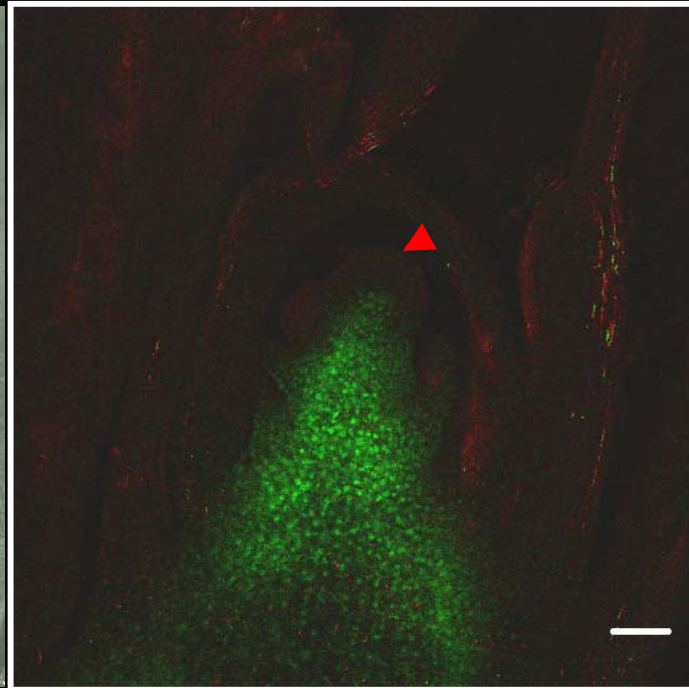
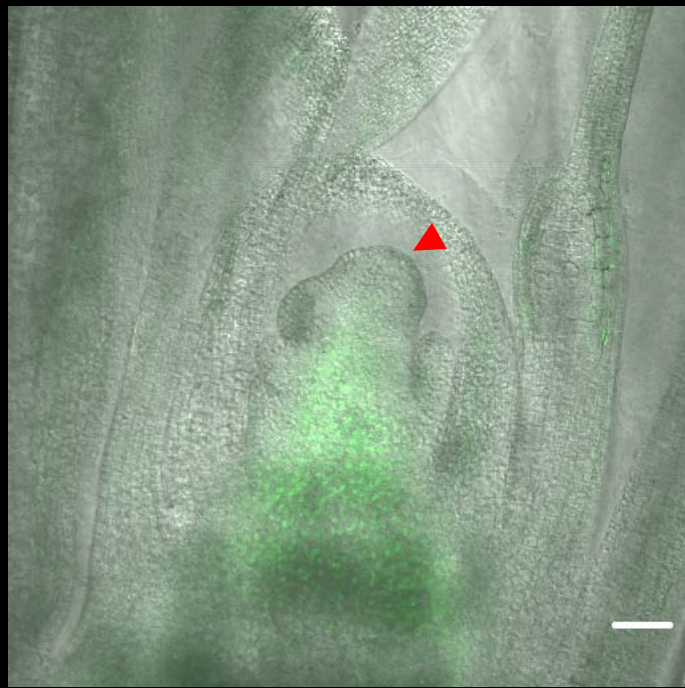


GFP 蛍光

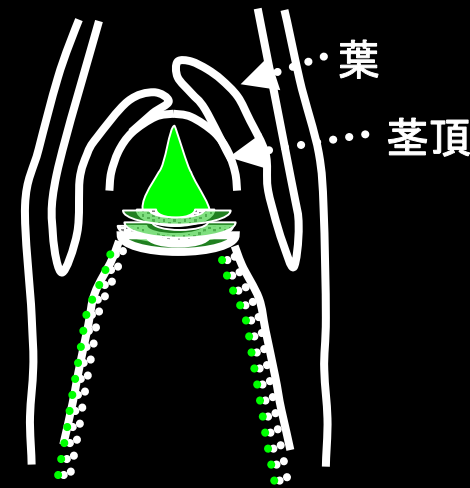


arrow head: 茎頂分裂組織
bar = 50 μ m

茎頂分裂組織におけるHd3a:GFPの観察



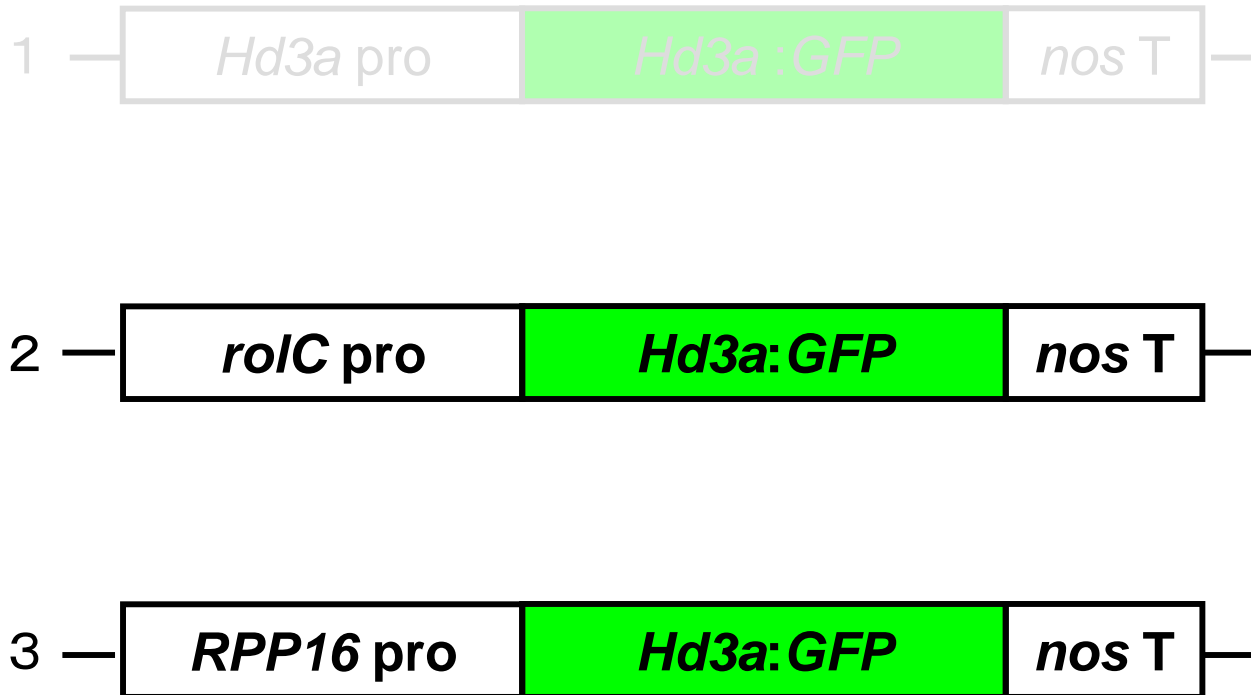
arrow head: 茎頂分裂組織
bar = 50 μ m



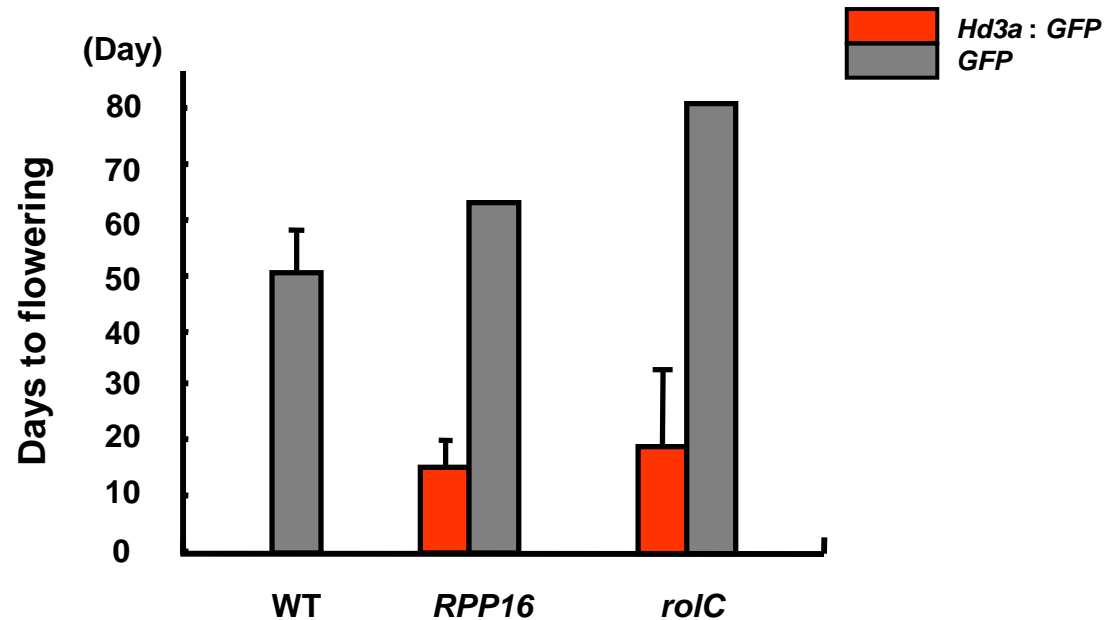
 Hd3a:GFP

 維管束

解析に用いた合成遺伝子

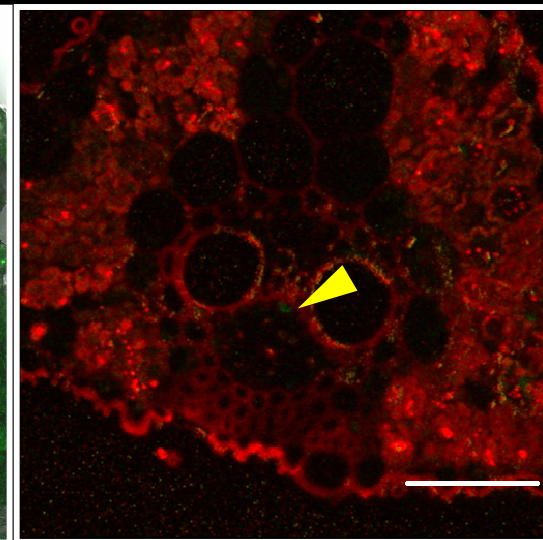
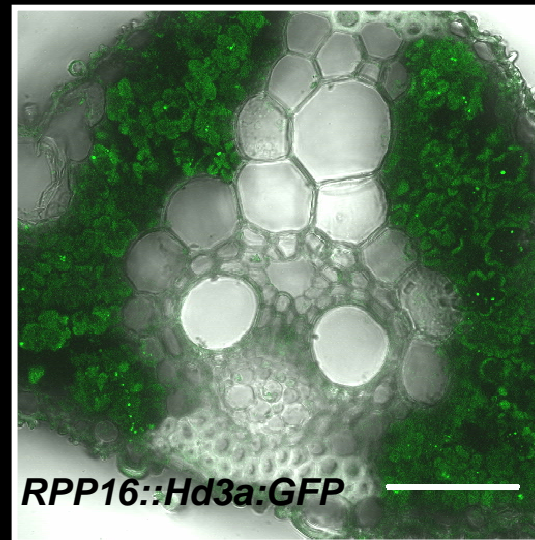
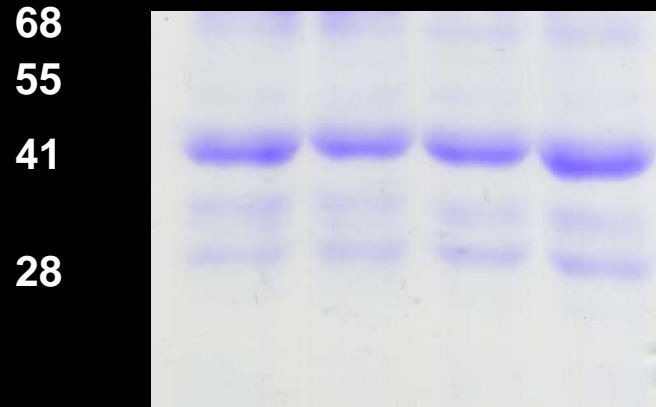
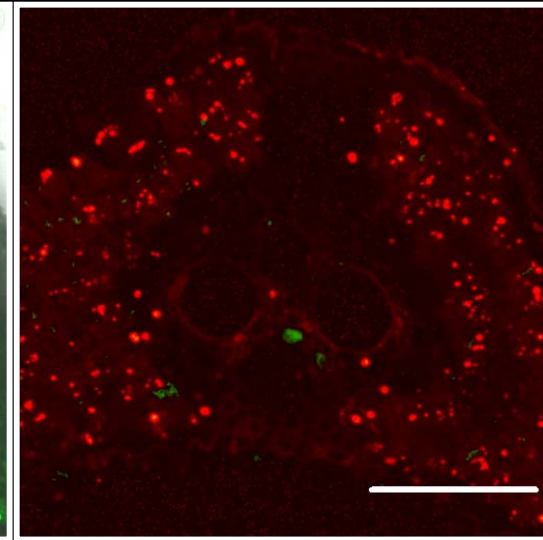
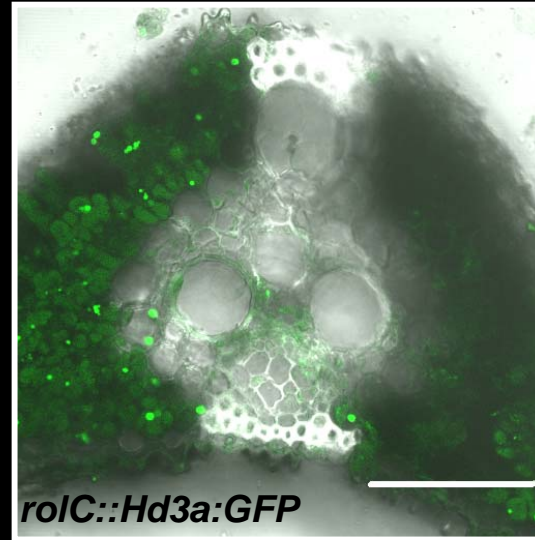
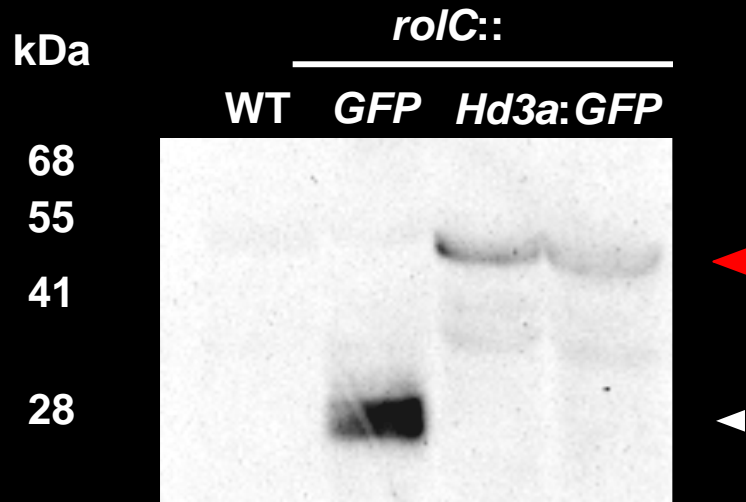


維管束特異的なプロモーターを用いた形質転換体も早咲き表現型を示す



genotype	Days to flowering (days \pm S.E..)	
WT	50.4 \pm 7.6	(n = 5)
<i>RPP16</i> :: <i>Hd3a</i> : <i>GFP</i>	14.6 \pm 4.6	(n = 5)
<i>RPP16</i> :: <i>GFP</i>	62	(n = 2)
<i>roIC</i> :: <i>Hd3a</i> : <i>GFP</i>	19.5 \pm 13.6	(n = 11)
<i>roIC</i> :: <i>GFP</i>	82	(n = 2)

Hd3a:GFP を発現させた植物体の葉において *Hd3a:GFP* タンパク質が検出された

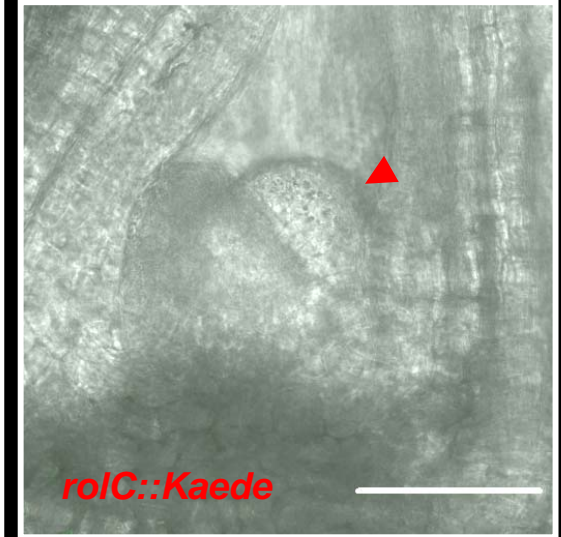
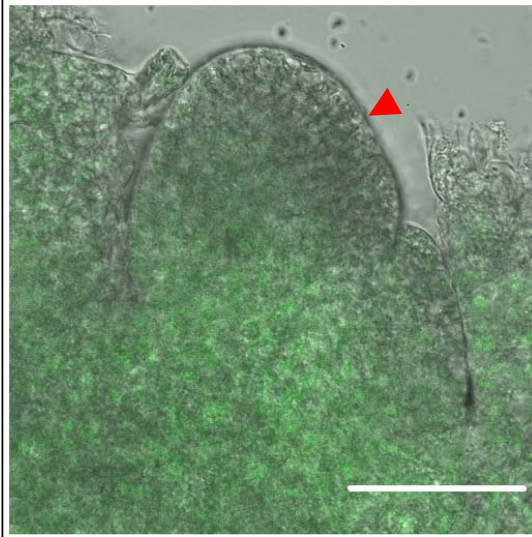
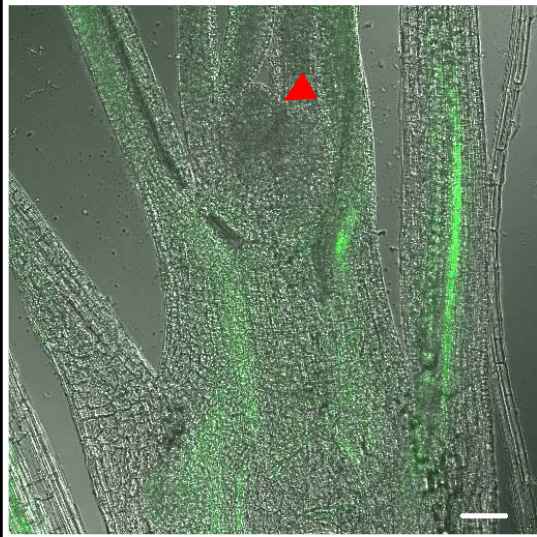


▶ *Hd3a:GFP* 46.9 kDa

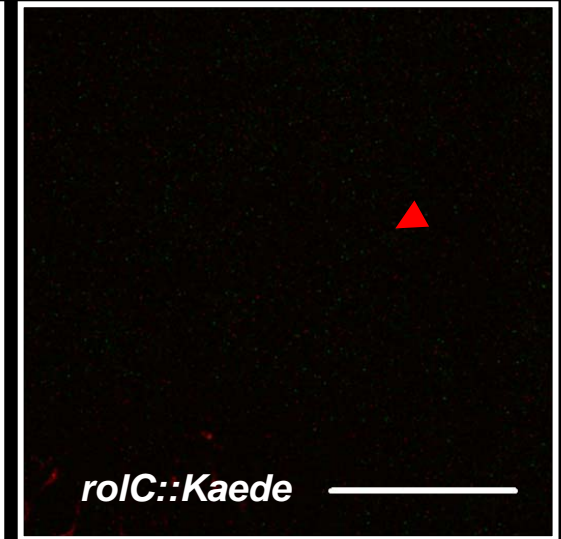
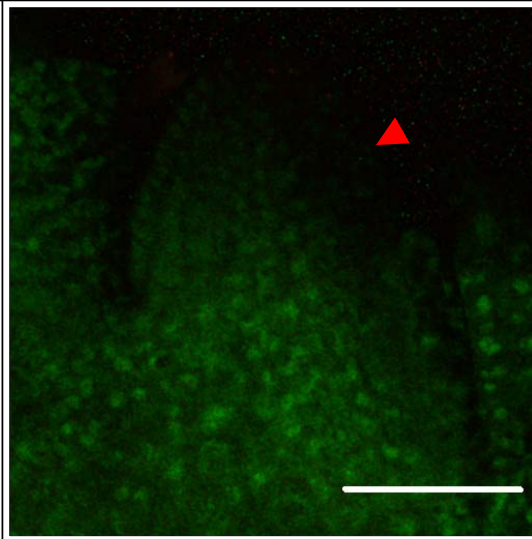
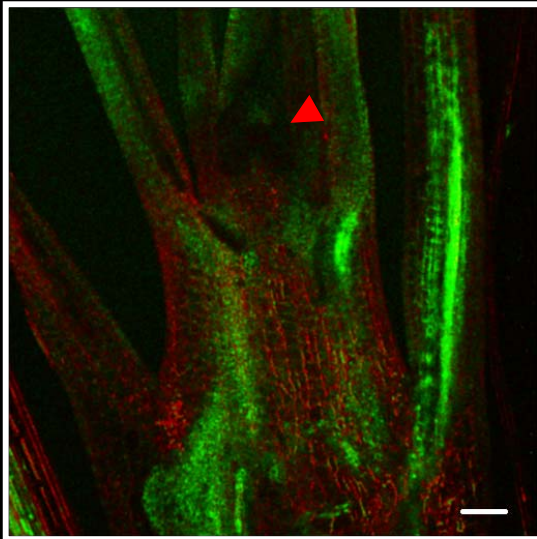
◀ *GFP* 27 kDa

rolC::Hd3a::GFP 植物体において維管束特異的に発現させたHd3a:GFPは茎頂分裂組織で観察される

明視野 + GFP



GFP 蛍光

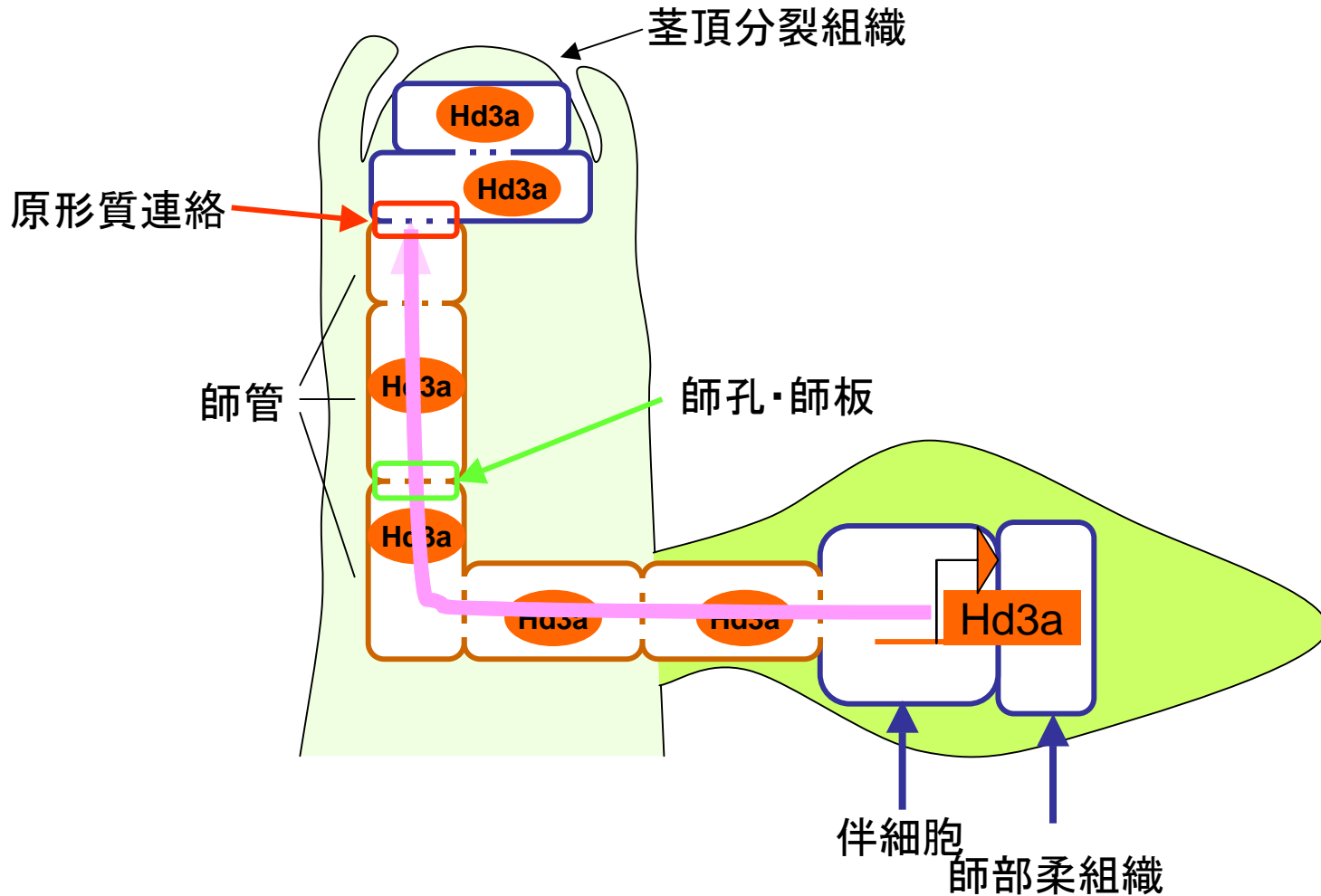


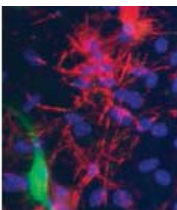
arrow head: 茎頂分裂組織
bar = 50 μ m

フロリゲン6つの条件と今回の解析で 明らかになったこと

- ① 植物の花成が誘導される日長条件下の葉において作られる。
Hd3a mRNAは短日条件の葉で高い発現を示す。
- ② 植物の花成を誘導する。
Hd3a 過剰発現体は早咲き表現型を示し、発現抑制体は花成がおくれる。
- ③ 接木間を移動できる。
Hd3a の相同遺伝子 *FT* のタンパク質は接木間を移動できる。(Corbesier et al, 2007)
- ④ 長日植物と短日植物において共通である。
短日植物のイネの *Hd3a* と 長日植物のシロイヌナズナの *FT* は
アミノ酸レベル で高い相同性を示し、機能もまた保存されている。
- ⑤ 師管を通じて移動する。
Hd3a は維管束の師管周辺で発現している。
- ⑥ 茎頂分裂組織にシグナルとして運ばれる。
Hd3a タンパク質が維管束から茎頂分裂組織まで連続的に観察された

Hd3aタンパク質の移動モデル





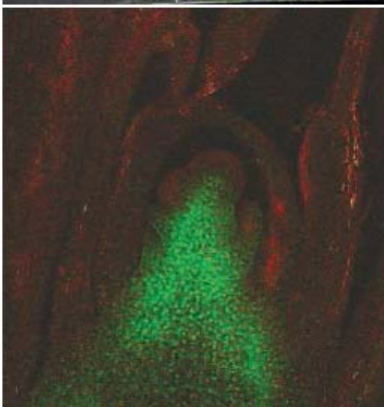
PLANT SCIENCE

Long-Sought Plant Flowering Signal Unmasked, Again

As elusive as the top quark, the signal that tells plants to flower has befuddled plant biologists for more than a century with many false leads to its identity. Two years ago, researchers created quite a stir with data indicating that this signal was messenger RNA (mRNA) that traveled from the so-called *flowering locus T* (*FT*) gene in plant leaves to the growth tip where flowering takes place. But those authors are now retracting that finding (p. 367). Instead, two new reports, published online by *Science* this week (www.sciencemag.org/cgi/content/abstract/1141752 and www.sciencemag.org/cgi/content/abstract/1141753), have fingered the FT protein itself.

"This is something we have been waiting for a long time," says J. A. D. Zeevaart, an emeritus plant physiologist at Michigan State University in East Lansing. "These two papers will be classics in the field for years to come," adds Philip Wigge, a plant biologist at the John Innes Centre in Norwich, U.K. Others, however, think the evidence is not yet conclusive. "They haven't taken the story any further," says William Lucas, a plant cell biologist at the University of California, Davis.

This story has its roots in a 1930s study by Russian plant physiologist Mikhail Chailakhyan. Based on grafting experiments, Chailakhyan proposed that when leaves sense the appropriate day length, they send a mobile signal called florigen to the plant's growing tip to initiate flowering. But



Peripatetic protein. In *Arabidopsis* (top), a leaf protein moves from a flowering graft into a nonflowering mutant, causing a stem and blossoms to form. In rice (bottom), the equivalent protein (green) shows up in the shoot apical meristem.

Proceedings of the National Academy of Sciences, Eliezer Lifschitz of Technion Israel Institute of Technology in Haifa reported no sign of mRNA from the *FT*-equivalent gene in the flowering shoots of tomatoes. And in their retraction notice, Huang's collaborators report that their initial analysis excluded some data and gave extra weight to other data. When they redid the experiments, "we could not detect movement of the transgenic FT mRNA," says Ove Nilsson, in whose lab Huang did this work. Huang, now at Xiamen University in China, has not agreed to the retraction.

Turnbull and George Coupland of the Max Planck Institute for Plant Breeding Research in Cologne, Germany, working with *Arabidopsis*, and another team studying rice, have now proposed that the mobile signal is the FT protein itself rather than mRNA.

In rice, the equivalent of the *FT* gene is called *Hd3a*. Ko Shimamoto of the Nara Institute of Science and Technology in Japan, his student Shojiro Tamaki, and their colleagues first measured *Hd3a* mRNA in various tissues. They found that in rice grown with short days (rice requires short days to develop flowers), the mRNA increased in leaves but was present only in very low amounts in the shoot apical meristem, the growing tip. Next, they made a transgenic rice strain by joining the gene for green fluorescent protein (GFP) with that for *Hd3a*, which made any *Hd3a* protein visible under a confocal laser scanning microscope. They saw the protein in the vascular tissue of the leaf and the upper stem as well as in the core of the growing tip.

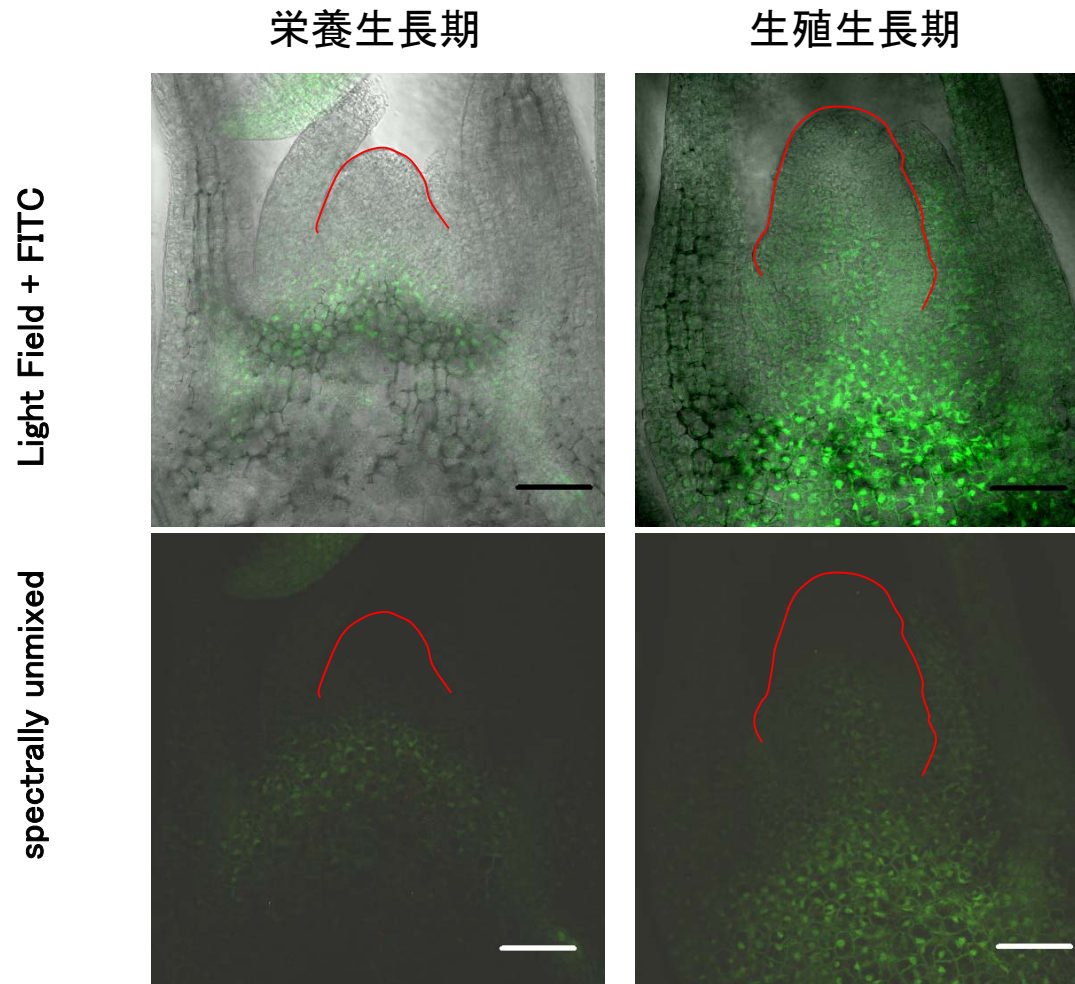
They then attached promoters to the combination *GFP/Hd3a* gene that caused the genes to turn on in the leaf but not in the growing tip. Flowering still occurred, they

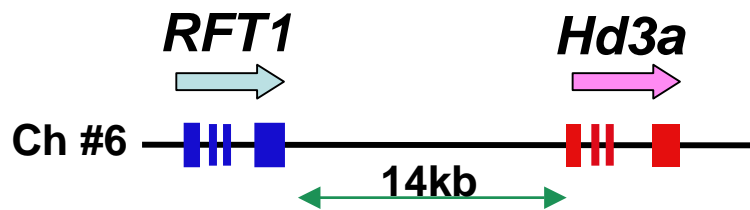
W.D.K. SHIMAMOTO

フロリゲン 今後の課題

- フロリゲンによって花の作られるしくみ
- フロリゲンの移行のしくみ
- フロリゲン遺伝子はひとつだけか？
- フロリゲンは全ての植物で共通か？
- 人工フロリゲンの合成は可能か？

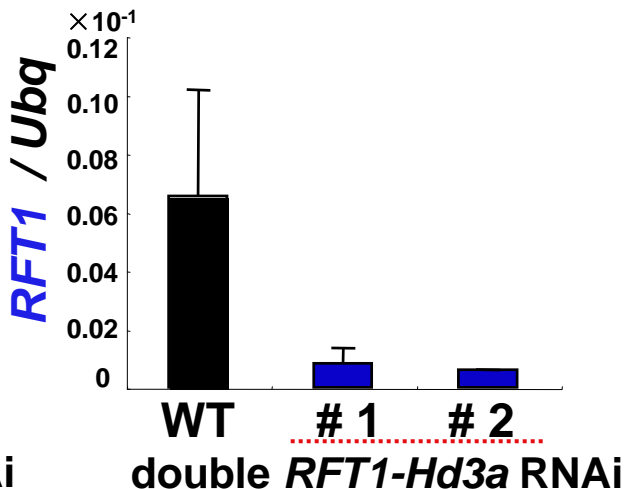
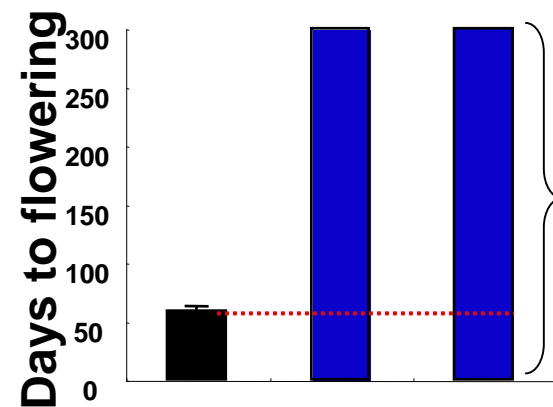
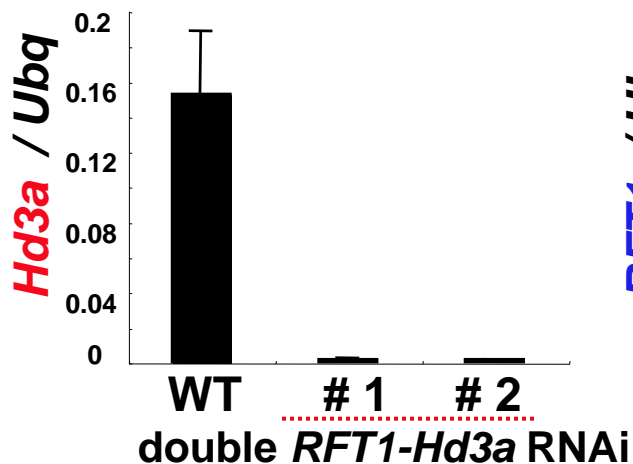
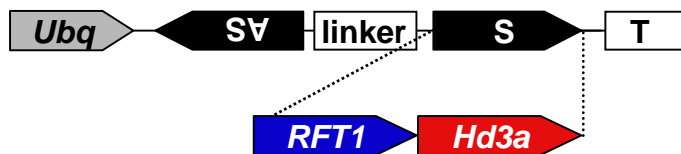
茎頂におけるHd3a:GFP の局在は成長時期によって異なるかもしれない



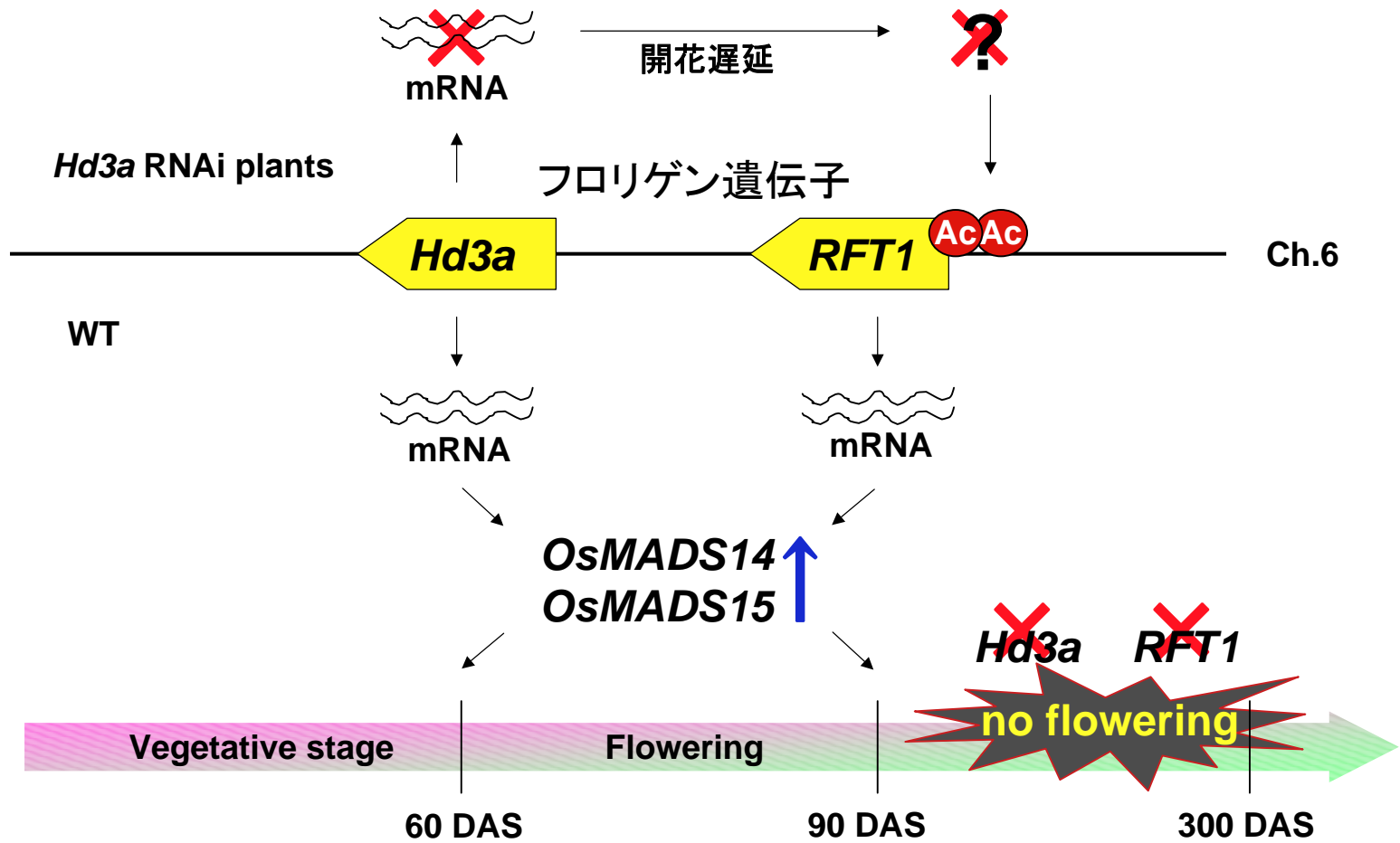


- *Hd3a* と *RFT1* 遺伝子は 高い相同性を持ち染色体の近い場所に存在する。しかし通常 *RFT1* 遺伝子は働いていない。

Hd3aとRFT1 両方なくなると花は咲かない!



フロリゲンは花を作るためにふたつの遺伝子を活性化する



rolC::Hd3a-GFP を導入したキク「神馬」

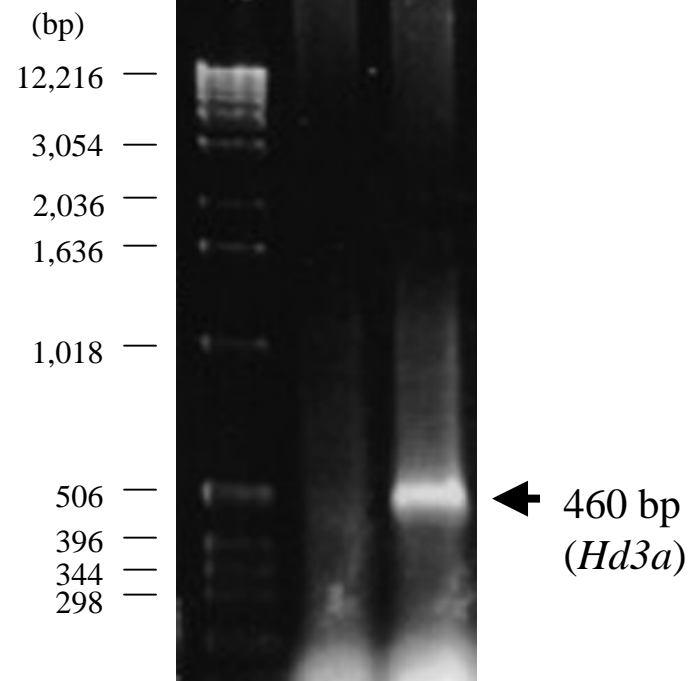


20℃・16時間日長下で蕾を付けた*Hd3a*遺伝子を導入した形質転換体



蕾内の正常な花芽分化

サイズマーカー
非形質転換体
形質転換体



RT-PCRによる形質転換体における*Hd3a*遺伝子発現の確認

rolC::Hd3a-GFP を導入したキク「神馬」の開花

20°C・16時間日長下 (3,000lx) での培養・栽培



培養ビン中での開花の様子



鉢上げ個体（左記の挿し木繁殖個体）の開花

従来、キク「神馬」では花芽分化や開花をしない長日条件下で、形質転換体は着蕾し、開花した



イネ由来*Hd3a*遺伝子がキクでも働き、開花を促進できる可能性が示唆された



イネのフロリゲン遺伝子を花の改良に応用できる

人エフロリゲンの合成は可能か？

- たんぱく質の改変
- 植物への導入法の開発