

2. 温暖化に適応する植物種の創出にむけた開花調節機構の解明

奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス領域 助教 久保田 茜

概要

本研究では、野外環境における花成制御機構の解明を目的として、特に高温により誘導される朝の *FT* (朝 *FT*) に着目し、その分子機構と生理的意義を解析した。CO および bHLH 転写因子の機能解析から、両者の複合体形成は *FT* 転写活性化に必須ではないものの、朝 *FT* 誘導および花成促進を増強することが示唆された。また、*FT* 遺伝子 3' 側エンハンサーが高温応答に関与する可能性が示された。さらに、継ぎ葉系を用いた解析により、*FT* の花成促進能は時間依存的であり、特に朝に発現する *FT* が最も強く花成を誘導することが明らかとなった。加えて、日中温度の上昇は朝 *FT* の花成促進能を顕著に促進した。以上より、*FT* の機能は時間および温度に依存して変化することが示され、野外環境に適応した新たな花成制御機構の存在が示唆された。

背景および目的

環境条件に応じて最適な時期に開花 (花成) をおこなうことは、植物の生存戦略上重要である。花成時期の変化は、農作物のバイオマスや種子の結実・発芽率といった形質にも影響を及ぼすため、産業的な側面においても重要度は高い。そこで本研究では、より効率的な農業生産にむけた基盤整備を目的として、野外環境における花成制御の分子機構の解明を目指す。

花咲ホルモンの正体である *FT* 遺伝子は、穀物から野菜を含むほとんどの被子植物において保存されており、春先の花成を促進する。これまでの研究により *FT* 遺伝子は、日長が十分に長くなると、夕方に 1 回のみ機能することで花成を促進すると考えられてきた。しかし代表者らは、春先の野外条件では *FT* は朝と夕方の 2 回発現することを見出した。特に、朝に発現する *FT* (以降朝 *FT* と表記) は日中温度の上昇によって引き起こされることを見出していたが、その制御メカニズムや生物学的意義は未解明な点が多く残されていた。そこで本研究では、日中の高温が朝 *FT* を制御する分子メカニズムを中心に、1 日の温度変動が季節性花成応答を制御する分子メカニズムの理解を深めることを目標とした。

方法

本研究では主に、①高温を介した朝 *FT* 誘導の分子メカニズムの解析、②*FT* の花成誘導能の時間依存性、の 2 計画を中心に研究を進めた。

①高温を介した朝 *FT* 誘導の分子メカニズムの解析

これまでの研究成果から、高温を介した *FT* の発現誘導には *FT* の転写アクチベーター CO と bHLH 型転写因子が関与することを見出していたが、CO-bHLH 複合体が朝 *FT* の転写を誘導する分子メカニズムは不明であった。そこでまず、*FT* 転写制御における CO-bHLH 複合体形成の重要性を検証するため、一方 (*co* または *bhlh* 変異体) 背景において他方の転写因子を誘導し、野生株および変異体背景における各転写因子の *FT* 転写活性化能を評価した。次に、CO-bHLH 複合体の *FT* 領域に対する DNA 結合能を ChIP-qPCR により評価した。最後に、CRISPR-

Cas9 を用いたゲノム編集により CO-bHLH 複合体が結合する領域を欠失させた株を作出し、CO-PIF7 の DNA 結合能および転写活性化能を評価するとともに、朝 *FT* の温度応答性を評価した。

②FT の機能の時間特異性の検証

朝夕に発現する *FT* はいずれもフロリゲンとしての花成促進能力をもつが、それぞれの環境応答性や制御機構は大きく異なり、花成への寄与も一様ではないことが示唆されている。そこで、継ぎ葉を用いた実験系を確立し、*FT* の花成促進能の時間特異性を検証した。熱ショック特異的に *FT* を誘導する植物体 (*HSP:FT*) の葉を *ft* 変異体の台木に継ぎ葉した植物体を作出し、朝・日中・日没時の 3 つの時間帯に 1 時間半の熱ショックを与え、単一葉で *FT* 発現を時間特異的に誘導した。これを数日間繰り返した後、台木の茎頂を単離し、*FT* 標的である花芽形成遺伝子 *API* の発現量を解析した。

結果および考察

①高温を介した朝 *FT* 誘導の分子メカニズムの解析

野生株および *bhlh* 変異体背景において、エストロゲン誘導性プロモーター下で *CO* を誘導し、*CO* の発現量に対する朝 *FT* の発現量を解析した。その結果、*bhlh* 変異体では野生株と比較して *CO* の *FT* 転写活性化能が顕著に抑制された。同様に、野生株および *co* 変異体で *bHLH* を誘導し、朝 *FT* の発現量を解析したところ、*co* 変異体では *bHLH* 誘導による朝 *FT* の誘導自体は確認されたものの、そのレベルは *co* 変異体とほぼ同程度に維持された。これらの結果に加え、*CO* と *bHLH* が *in vivo* でタンパク質間相互作用を示すことから、*CO-bHLH* 複合体の形成は *FT* の転写活性化に必須ではないものの、両者の相互作用が朝 *FT* の誘導を促進する可能性が示唆された。

次に、野生株および *bhlh* 変異体背景で *CO* を過剰発現させ、温度変動条件下における花成時期を解析した。その結果、野生株では花成時期が顕著に早期化したのに対し、*bhlh* 変異体背景では花成促進効果が野生株の 8 割程度にとどまった。これらの結果から、*CO-bHLH* 複合体形成が花成促進に重要な役割を果たすことが示唆された。

これまでの結果により、*CO* および *bHLH* は高温下では特に *FT* 遺伝子の 3' 側エンハンサーに結合する可能性が示唆されている。そこで、この領域をゲノム編集により欠失させ、温度変動環境下における *FT* の発現様式を解析したところ、高温下での朝 *FT* の発現が野生株の半分程度に低下した。さらに予備的ではあるものの、エンハンサー欠失株で *CO* を過剰発現させた株では、野生株と比較して *FT* の誘導度が低下した。このことから、3' 側エンハンサーが *CO-bHLH* 複合体を介した朝 *FT* の発現誘導に関与する可能性が示唆された。現在これらの株で ChIP-qPCR を行い、*CO-bHLH* 複合体の DNA 結合を解析中であり、得られた結果とともに温度変動環境における 3' エンハンサーの役割を明らかにしたい。

②FT の機能の時間特異性の検証

HSP:FT の葉を *ft* 欠損変異体に継ぎ葉した *HSP:FT/ft* 植物体に時間特異的に熱ショックを与え、花芽形成遺伝子 *API* の発現量を解析することにより、*FT* の時刻依存的な花成促進能を評価した。コントロールには *ft* 欠損変異体同士を継ぎ葉した *ft/ft* を用いた。その結果、熱ショックを 5 日以上繰り返すことで、*HSP:FT/ft* では *ft/ft* と比較して *API* の誘導が顕著に認められた。*API* の誘導度は、朝、次いで日没時に効果的であったのに対し、日中の *FT* 誘導では *API* はほとんど誘導されなかった。このことから、朝に発現する *FT* が最も花成促進に効果的である可能性が示唆された。

次に、朝 *FT* の花成促進能に対する 1 日の温度変動の効果を継ぎ葉の実験系により解析した。その結果、日中温度を 22 度から 28 度に上昇させた条件では、*API* の誘導度が 3 倍以上に上昇することが明らかとなった。日中温度の上昇による *API* 誘導の変化は朝 *FT* の場合に特異的であり、日没時の *FT* 誘導に対しては日中温度上昇の効果はほとんど見られなかった。以上の結果より、*FT* 転写後の翻訳後修飾あるいは茎頂への輸送過程、または茎頂側の感受能が時間および温度依存的に変化する可能性が示唆された。今後は *FT* の輸送過程および茎頂側の遺伝子発現プロファイルを詳細に解析することで、これらの可能性を順に検証していく予定である。

(完)

発表論文

- 1) 久保田茜 (2025)、温度変動環境下におけるシロイヌナズナの花成制御機構, 植物科学最前線 16, doi: 10.24482/bsj-review.16c2.00286
- 2) Kubota A, Kondo Y, Takagi H, Muranaka T, Yamaguchi N, Sugano SS, Nagano AJ, Endo M, Imaizumi T (2025) Seasonal changes in daily temperature fluctuation control flowering through a time-dependent regulation of *FLOWERING LOCUS T* in *Arabidopsis*. Research square. doi: 10.21203/rs.3.rs7234857/v1
- 3) Endo M, Ito M, Kubota A, Takahashi N. (2026) GEAR: an integrated atlas of gene expression dynamics in *Arabidopsis thaliana*. Nucleic Acids Res. 54 (D1):D1711-D1719. doi: 10.1093/nar/gkaf1056.