

花咲かホルモン（フロリゲン）

奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス研究科 辻 寛之
田岡健一郎
島本 功

フロリゲンは植物の花を形成させる決定的な効果を持つ物質として、1937年にその存在が提唱された。美しい花とその後の実りをもたらすフロリゲンは植物科学者にとって極めて魅力的な研究対象となり、その存在が提唱されて以来フロリゲンの正体を明らかにするために数多くの研究がなされてきた。しかし、こうした努力にも関わらずフロリゲンの分子実体は長く謎のままであり、いつしか「幻の植物ホルモン」とまで呼ばれるようになっていった。しかし、近年モデル植物を用いた分子遺伝学的研究が精力的に進められた結果、2007年についてフロリゲンの正体が Hd3a/FT と呼ばれるタンパク質であることが明らかとなった。ここではフロリゲン研究の歴史的経緯を概説するとともに、筆者らの研究室で進められてきたフロリゲンの実体解明の研究¹と、最近明らかになったフロリゲン受容体²について解説する（図-1）。さらに筆者らは共同研究でフロリゲンの活性本体となるタンパク質複合体の結晶構造を明らかにしており²、ここから期待される開花調節剤開発の展望について述べる。

フロリゲン説

花がいかにして形成されるかという問題は、人々の関心を長く惹きつけてきた。ドイツの文豪ゲーテ(Johann Wolfgang von Goethe)は、18

世紀の後半に著書「植物変形論(Metamorphose der Pflanzen)」の中で、植物形態の詳細な観察に基づき「花は葉の変形である」と主張している。花弁などの花器官も最初は葉として発生しており、ここにある刺激が作用することで葉が花器官に変形するというものである。この主張は後に有名な「ABCモデル」の形で分子レベルの証明がなされ大きな話題となった³。さらにこの概念からは葉を花の器官に変形させる効果をもつ物質の存在が想定される。植物生理学の創始者ともいえるドイツの植物学者ザックス(Julius von Sachs)も、19世紀の後半に様々な生理学実験の結果を総合して植物の器官形成物質という概念を提唱している。その中でも花器官を形成させる仮想の物質として「花形成物質」を想定している。花を咲かせるホルモン・フロリゲンの概念的な起源はこの「花形成物質」にまで遡ることが可能であろう。

フロリゲン説の提唱に至る直接的な契機となったのは、1920年にアメリカ農務省の研究者ガーナーとアラードによる光周性花成の発見である。光周性花成とは植物の花芽形成(花成)が日長(光周期)によって制御される性質のことである。植物の多くは一年間の季節の変化を予測して(例えばある種の植物では寒い冬がやってくる前に)花をつけることができる。しかし植物が環境のパラメーターの中で何を用いて季

節変化を予知しているのかは、ガーナーとアラードの発見まで分かっていなかった。彼らはたくさんのタバコを栽培する中で、メリーランドマンモスと呼ばれる奇妙な品種を見いだした。通常のタバコは夏に花をつける一方で、この品種は夏には花をつけず、秋にさしかった時にだけ花を咲かせることを見いだした。彼らはこの現象に興味を持ち、メリーランドマンモスが様々な環境条件のなかでも何を利用して夏と秋を見分けるのか、種々の条件を試験していった。その結果、もっとも考えやすい要素である気温や照度などではなく、一日の日の長さ(日長)が最大のキー因子であることが分かった。この発見は後に動物の季節性繁殖行動等にも波及し、地球の公転による季節変化と生命の営みを同期させるための動植物に普遍的なメカニズムであることが明らかとなってきた。現在では光周性花成の制御機構は概日時計と光情報入力系の複雑な相互作用で成立していることが明らかにされつつある⁴。

植物が日長を認識して花成を開始させることが明らかになったとき、次の重要な質問は植物体のどの器官が日長を認識するかという問題であった。植物の発生では、新しい葉(及び葉の変形である花器官)は茎の先端の幹細胞集団である茎頂分裂組織から生み出される。従って単純に考えると茎頂が日長を直接認識する可能性が考えられる。ところが植物体の様々な部位を覆い隠して部分的に日長を変化させる実験を行ってみると、植物が日長を感受している器官は花のつく茎頂ではなく空間的に離れた葉であることが分かった。つまり葉は日長を計測して花成に最適な季節の到来を判断する器官であり、葉から茎頂までの長距離を情報が伝達されて花成が開始されると考えられる。ロシアの植物生理

学者チャイラヒアンは、キクを用いた接ぎ木実験からこの移動性物質の存在を確信し、1937年に花成ホルモン・フロリゲンという概念を提唱した。ちょうどこれと同時期にはダーウィンの見いだした光屈性現象を説明する物質としてオーキシンの分子実体が解明されたこともあり、物質としてフロリゲンを取り出す研究が精力的に行われた。しかし決定的なフロリゲン活性の抽出には至らず、いつしかフロリゲンは「幻の植物ホルモン」とまで呼ばれるようになっていった。

フロリゲンの正体

フロリゲンの正体を明らかにする様々な努力にも関わらず、長い間フロリゲンの正体は謎のままであったが、存在が提唱されてから70年を経て、2007年に筆者らの研究グループをはじめとする複数の研究グループからHd3a/FTと呼ばれるタンパク質がフロリゲンの正体であることが明らかとなった(図-1)^{1,5}。これまで植物

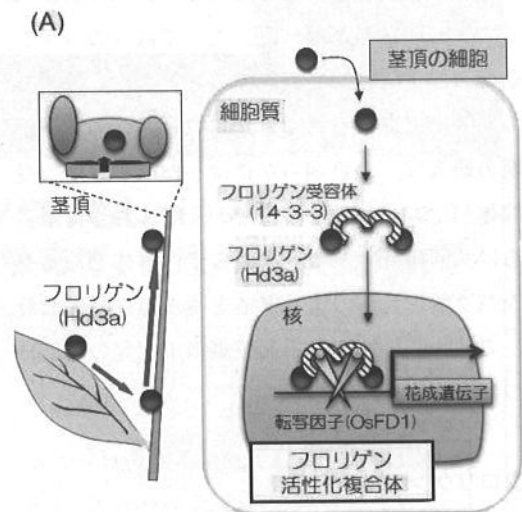


図-1 フロリゲンの受容と機能の仕組み
フロリゲンの長距離移動と茎頂メリステム
における受容及び機能のモデル。

ホルモンは低分子化合物もしくはペプチドしか知られていなかったため、フロリゲンの発見はこの概念も覆したといえよう。フロリゲンの実体的な解明にはモデル植物を用いた分子遺伝学的手法の完成が大きく貢献した。1990年代よりシロイヌナズナ及びイネから多数の花成制御遺伝子座が同定されるようになり、後にフロリゲン遺伝子であることが明らかとなるシロイヌナズナ *FT* 遺伝子・イネ *Hd3a* 遺伝子も突然変異体の解析や量的遺伝子座の解析から同定された^{6,7}。

古典的な生理学実験からはフロリゲンの正体を明らかにすることはできなかったが、その研究の過程から、フロリゲンがどのような物質であるかについて重要な条件が提示されて行った。それらは下記の5つにまとめられる。イネ *Hd3a*/シロイヌナズナ *FT* タンパク質はこれら全ての条件を満たしており、まさしくフロリゲンの正体であると考えられるようになった。以下にその概略を述べる。

- (1) フロリゲンは花成を促進する日長条件で合成される：イネ *Hd3a* 遺伝子はイネの花成誘導条件である短日条件で、シロイヌナズナ *FT* 遺伝子はシロイヌナズナの花成誘導条件である長日条件で、特異的に発現誘導される^{6,7}。
- (2) フロリゲンは葉で合成される：イネ *Hd3a* 遺伝子もシロイヌナズナ *FT* 遺伝子も、葉の維管束篩部において特異的に発現している¹。
- (3) フロリゲンは維管束篩部を経由して茎頂へ輸送される：イネ *Hd3a* と緑色蛍光タンパク質 GFP の融合タンパク質をコードする融合遺伝子をイネ *Hd3a* 遺伝子のプロモーターによって発現させると、この遺伝子の転写活性と mRNA は葉にしか存在しないにもかかわらず、*Hd3a*-GFP 融合タンパク質は茎頂で明瞭に観察される。このことは *Hd3a* が葉から茎頂へ長距離移

動することを強く示唆している¹。シロイヌナズナにおいても、接ぎ木実験等から *FT* タンパク質の長距離移動性が確認されている^{5,8}。

- (4) フロリゲンは茎頂で花成を開始させる：イネは実際にはフロリゲン遺伝子を2つ持っており、*Hd3a* 及びそのパラログ遺伝子 *RFT1* と呼ばれる。この2つを RNAi によって同時に不活化すると、イネは開花不可能になることから、フロリゲンはイネの花成に必須であることが分かった⁹。逆に *Hd3a* を高発現するイネは極早生となる⁵。シロイヌナズナにおいても、*ft* 変異体は花成遅延、*FT* 過剰発現は花成促進の表現型を示す⁶。
- (5) フロリゲンは植物種間において保存されている：古典的には、異なる種間の接ぎ木実験によって接ぎ木可能な範囲内ではあるがフロリゲンの花成促進効果の普遍性が指摘されていた。*Hd3a* 及び *FT* 遺伝子の同定以後、これらの遺伝子が様々な植物に形質転換され、そのどれもが花成促進の表現型を示したことから、*Hd3a*/*FT* の効果は高等植物に普遍的であると考えられている。

フロリゲン受容体

フロリゲン *Hd3a*/*FT* タンパク質は分子量 22,000 の球状タンパク質である¹⁰。フロリゲンの正体が明らかになった次の重要な質問は、このボール状の構造がいかにして花を咲かせるのかということである。*Hd3a* タンパク質はフォスファチジルエタノールアミン結合タンパク質ドメインを持っているが、このドメインの機能も不明瞭であり、生化学的な機能が推定できない。このような状況から、フロリゲンは単独で機能しているとは考えにくく、他の機能的なタンパク質と複合体を形成して機能している可能性が考えられた。筆者らはフロリゲンと結合するタンパク質の探索とその機能解析を行い、結

合タンパク質の一つ14-3-3がフロリゲンの細胞内受容体として機能することをはじめて明らかにした(図-1)²。

シロイヌナズナFT遺伝子の研究から、FTが完全に機能するためには茎頂で発現する転写因子FDとの結合が必須であることが指摘されていた^{11,12}。筆者らはイネからFDホモログであるOsFD1を単離してHd3aとOsFD1の相互作用を検証したところ、両者は植物細胞内では確かに相互作用するものの、*in vitro*での直接的な相互作用は極めて高感度なアッセイにおいても検出できないことが明らかとなった。このことはHd3aとOsFD1の相互作用は直接的ではなく、細胞内には両者を繋ぐ未知のメカニズムが存在することを示唆している。筆者らはHd3a及びその相互作用タンパク質の詳細な解析を進め、「14-3-3」と呼ばれる奇妙な名称のタンパク質がミッシングリンクの実体であることを明らかにした。14-3-3という名称は1900年代半ばにこのタンパク質が同定された際の、クロマトカラムの溶出パターンに由来している。14-3-3は真

核生物に高度に保存されたタンパク質であり、リン酸化セリン結合ポケットを介した標的リン酸化タンパク質との相互作用を通して細胞内の様々な情報伝達過程を制御することが知られている¹³。14-3-3はリン酸化セリン結合ポケットでOsFD1のリン酸化セリンと結合し、同時にこれまで知られていない新規な結合面を介してHd3aとも同時に結合していたのである。

さらに植物細胞内におけるHd3a、14-3-3、OsFD1の3タンパク質複合体の構築過程を解析する過程で、14-3-3タンパク質がフロリゲン受容体として機能していることが明らかとなった(図-3)。培養細胞を用いた実験系で14-3-3の細胞内局在を調査したところ、14-3-3は細胞質に主に局在していることが明らかとなった。次にHd3aと14-3-3の複合体の細胞内局在を、二分子蛍光補間法というイメージング手法で可視化したところ、複合体も細胞質に形成されることが分かった。ところが3つめの因子であるOsFD1は転写因子であり、明瞭な核局在を示す。すなわちHd3a-14-3-3とOsFD1は別々の

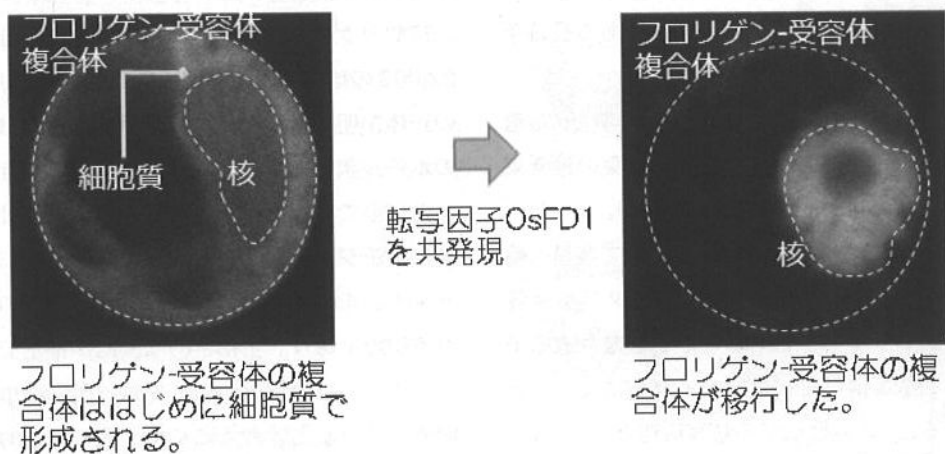


図-2 フロリゲンの受容と機能の仕組み

フロリゲン活性化複合体の結晶構造。
転写因子とDNAの部分は未解明であり、モデリングにより構築している。

細胞内局在をとったのである。そこで筆者らは Hd3a-14-3-3 複合体の二分子蛍光補間法イメージングと OsFD1 の共発現実験を行った。その結果、この条件において Hd3a-14-3-3 複合体の局在が細胞質から核へ移行し、OsFD1 と重なることが明らかとなった (図-2)。さらに、蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) という現象を利用した独自のイメージング実験によって、生細胞の核内において Hd3a-14-3-3-OsFD1 の複合体が形成されていることを強く示唆する結果を得ることができた。これらを総合すると、茎頂に到達したフロリゲンは茎頂細胞の細胞質において最初に 14-3-3 と結合し、Hd3a-14-3-3 複合体の形で核移行してさらに OsFD1 と転写複合体を形成すると考えられる。このことから 14-3-3 はフロリゲンの細胞内受容体として機能しているといえよう²。

フロリゲン活性化複合体

筆者らはさらに蛍光寿命測定法という先端的なイメージング実験を駆使して、生細胞の核内で Hd3a-14-3-3-OsFD1 からなる複合体が実際に形成されていることを示すことができた。筆者らはこの複合体をフロリゲン活性化複合体と名付け、詳細な機能解析を行った。フロリゲン Hd3a に変異を導入して受容体 14-3-3 の結合を損なわせると、OsFD1 との複合体形成能も不可能になり、同時に花成誘導性遺伝子の発現誘導能および形質転換イネにおける花成誘導能を失う。すなわちフロリゲンと受容体の結合ならびにフロリゲン活性化複合体の形成はフロリゲン機能に必須であることから、フロリゲン活性化複合体がフロリゲン機能の本体であると考えられる。

筆者らは、奈良先端大の大木出博士及び児嶋

長次郎博士 (現・大阪大学蛋白質研究所) との共同研究でフロリゲン活性化複合体の立体構造も明らかにすることができた (図-2)²。複合体は全体で W 字型をしており、14-3-3 の 2 量体が形作る骨格の左右上部隅に一つずつ Hd3a が配置し、中央の溝に OsFD1 の 2 量体が位置する。Hd3a と 14-3-3、及び 14-3-3 と OsFD1 の結合面の構造も決定されている。Hd3a は 2 つのアルギニン残基を 14-3-3 の酸性のくぼみにはめ込むと同時に、14-3-3 表面の疎水性領域と広く相互作用していることが分かった。また 14-3-3 と OsFD1 の相互作用は典型的な 14-3-3/リン酸化セリンの結合様式によく一致していた。さらに複合体内における Hd3a の配置も興味深い。Hd3a にはアニオン結合ポケットと呼ばれる領域が存在しており、フロリゲンとしての機能を発揮するために重要であると考えられてきた。得られた構造からはこのポケット領域が複合体の外側を向いていることが分かる。すなわち

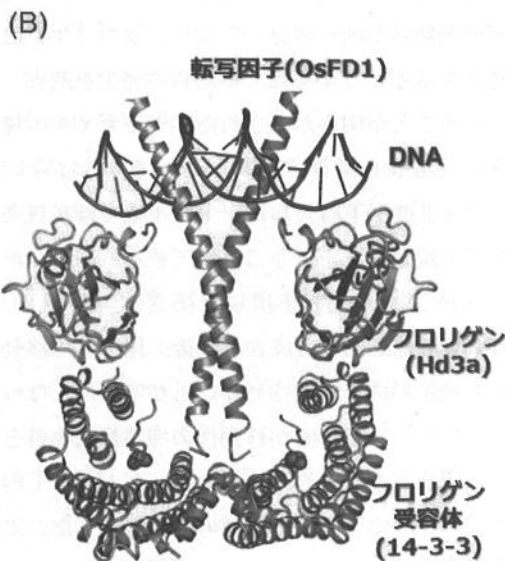


図-3 フロリゲンと受容体の核移行
フロリゲン-受容体の複合体を 2 分子蛍光補完法によって可視化し、核移行過程を追跡した。

Hd3aはこのポケットを介して、さらに転写活性化因子等を複合体にドッキングさせ、花成誘導遺伝子の発現を活性化させる可能性が考えられる。

フロリゲンの多機能性

最近になって、フロリゲンが花成にとどまらず植物の発生の多様な局面を制御する機能を持っていることが明らかになってきた。もっとも顕著な例はジャガイモの塊茎（イモ）形成であろう¹⁴。古くからジャガイモの塊茎形成は光周性制御を受け、かつ長距離移動性の塊茎形成物質によって制御されていると考えられてきた。塊茎形成は短日条件下において促進されるが、このとき葉で塊茎形成物質が合成され、地下茎先端まで移動して塊茎形成が開始される。塊茎形成物質の正体もまた謎であったが、フロリゲンとの作用様式の類似性も指摘されていた。フロリゲンの実体解明を受けて進められた最新の研究成果から、驚くべきことにフロリゲンと塊茎形成物質が同一の分子であり、フロリゲンは花と塊茎という全く異なる器官の発生を制御していることが明らかにされた。ジャガイモの塊茎形成は長日条件では抑制されるが、イネのHd3aを遺伝子導入したジャガイモでは長日条件でも塊茎形成を行うことができる。さらに形質転換ジャガイモを用いた接ぎ木実験から、Hd3aは地上部で合成された後、地下茎へ移動して塊茎形成を開始させることが明らかとなった。これらはHd3aが移動性の塊茎形成物質として機能することを示している。ジャガイモ内在のHd3aホモログも同様の活性を示した。また筆者らはイネにおいてフロリゲンが長距離移動性の分枝促進因子としても機能することを明らかにしている（辻ら、未発表）。これらの発見

に共通するのはHd3aタンパク質が長距離移動して植物の発生を制御する点である。筆者らはHd3a/FTの研究を通して、これまでに知られていなかった「タンパク質の長距離移動による発生制御」という新しい研究領域を開拓できるのではないかと期待している。

フロリゲンの応用展開

フロリゲンの発見とその機能メカニズムの解明からは、植物に普遍的な花成制御技術の可能性が考えられる。フロリゲン活性化複合体を構成するHd3a, 14-3-3, FD等は高等植物に広く保存されており、構造解析から各々の結合面の保存性も明らかになっている。実際にこれまでに調べられたすべての植物において、フロリゲン量を直接増加させる、つまりHd3a/FTを高発現させると早咲きとなり、逆に低下させると遅咲きになることがわかっている。一方フロリゲンの合成経路に位置する遺伝子も植物改良の標的になりうるが、フロリゲン合成経路の活性は極めて複雑な光周性制御を受けるため、その複雑さからコントロールが難しいケースがしばしば見いだされる。例えばシロイヌナズナCO遺伝子はフロリゲン遺伝子FTの発現を直接上昇させるため、過剰発現によって早咲きを達成できる¹⁵。一方でイネのCOホモログであるHd1遺伝子にはイネ独自の複雑な機能制御メカニズムが存在しており、イネで過剰発現させると逆にフロリゲン遺伝子Hd3aの転写を抑制して遅咲きとなる¹⁶。すなわちフロリゲン合成の上流に位置する遺伝子群は、長日植物と短日植物の間で異なる光周性制御が行われている一方で、フロリゲン自体はその作用メカニズムも高度に保存されているため、植物機能改変のキープレーヤーとなりうるのである。

またフロリゲン活性化複合体の構造決定からは、フロリゲンを直接の標的とした新規な開花調節剤開発の可能性が開かれる。特にフロリゲンと受容体の結合面は重要な標的と考えられ、立体構造に基づいてフロリゲン-受容体間の結合を特異的に阻害する低分子化合物をデザインできれば有用な生長調節剤の開発につながるであろう。葉菜類の抽だいを抑制する、茎葉などソフトバイオマスを増産する、切り花の周年供給に貢献するといった花成の時期の人為制御の可能性に加えて、フロリゲン活性を適度に抑制することでトマトの収量が大きく増加することも報告されており¹⁷、多収化も視野に入れた多様な形質に波及効果のある新しい生長調節剤につながると思われる。

謝辞

本稿の構造解析の解説部分においては、共同研究者である大木出博士、児嶋長次郎博士に構造解析のモデル図使用を承諾いただき、また貴重な助言をいただきました。筆者らの所属する奈良先端大バイオサイエンス研究科植物分子遺伝学研究室の皆様からも有益なご意見をいただきました。ここに謝意を表します。

- 1 Tamaki, S., Matsuo, S., Wong, H. L., Yokoi, S. & Shimamoto, K. (2007) Hd3a protein is a mobile flowering signal in rice. *Science* 316, 1033-1036.
- 2 Taoka, K.-i. et al. 14-3-3 proteins act as intracellular receptors for rice Hd3a florigen. (2011) *Nature* 476, 332-397.
- 3 Coen, E. S. & Meyerowitz, E. M. (1997) The War of the Whorls - Genetic interactions controlling flower development. *Nature* 353, 31-37.
- 4 Tsuji, H., Taoka, K.-i. & Shimamoto, K. (2010) Regulation of flowering in rice: two florigen genes, a complex gene network, and natural variation. *Curr. Opin. Plant Biol.* 14, 45-52.
- 5 Corbesier, L. et al. (2007) FT protein movement contributes to long-distance signaling in floral induction of Arabidopsis. *Science* 316, 1030-1033.
- 6 Kobayashi, Y., Kaya, H., Goto, K., Iwabuchi, M. & Araki, T. A (1999) pair of related genes with antagonistic roles in mediating flowering signals. *Science* 286, 1960-1962.
- 7 Kojima, S. et al. (2002) Hd3a, a rice ortholog of the Arabidopsis FT gene, promotes transition to flowering downstream of Hd1 under short-day conditions. *Plant Cell Physiol.* 43, 1096-1105.
- 8 Notaguchi, M. et al. (2008) Long-Distance, Graft-Transmissible Action of Arabidopsis FLOWERING LOCUS T Protein to Promote Flowering. *Plant Cell Physiol.* 49, 1645-1658.
- 9 Komiya, R., Ikegami, A., Tamaki, S., Yokoi, S. & Shimamoto, K. (2008) Hd3a and RFT1 are essential for flowering in rice. *Development* 135, 767-774.
- 10 Ahn, J. H. et al. (2005) A divergent external loop confers antagonistic activity on floral regulators FT and TFL1. *EMBO J.* 25, 605-614.
- 11 Abe, M. et al. (2005) FD, a bZIP protein mediating signals from the floral pathway integrator FT at the shoot apex. *Science* 309, 1052-1056.
- 12 Wigge, P. A. et al. (2005) Integration of

- spatial and temporal information during floral induction in Arabidopsis. Science 309.
- 13 Ferl, R. J., Manak, M. S. & Reyes, M. F. (2002) The 14-3-3s. Genome Biol. 3, 3010.
- 14 Navarro, C. et al. (2012) Control of flowering and storage organ formation in potato by FLOWERING LOCUS T. Nature 478, 119-132.
- 15 Putterill, J., Robson, F., Lee, K., Simon, R. & Coupland, G. (1995) The CONSTANS gene of Arabidopsis promotes flowering and encodes a protein showing similarities to zing-finger transcription factors. Cell 80, 847-857.
- 16 Ishikawa, R. et al. (2011) Phytochrome B regulates Heading date 1 (Hd1)-mediated expression of rice florigen Hd3a and critical day length in rice. Molecular Genetics and Genomics 285, 461-470.
- 17 Krieger, U., Lippman, Z. B. & Zamir, D. (2011) The flowering gene SINGLE FLOWER TRUSS drives heterosis for yield in tomato. Nat. Genet. 42, 459-463.

豊かな稔りに貢献する 石原の水稲用除草剤

SU抵抗性雑草に優れた効果を発揮

非SU系水稲用初期除草剤

プレキープ®フロアブル

・湛水直播の播種前後にも使用可能!

長期間安定した効果を発揮

石原
ドクジガード®

フロアブル/1キロ粒剤

- ・SU抵抗性雑草、難防除雑草にも優れた効果!
- ・クログワイの発根やランナー形成を抑制!
- ・田植同時処理が可能!

高葉齢のノビエに優れた効き目



フルセトスルフロン剤
ラインナップ



スウギ 1キロ粒剤

フルチャーシ
1キロ粒剤・ジャンボ

フルフォース
1キロ粒剤

フルニンガ
1キロ粒剤

ナイスドール
1キロ粒剤

そのまま散布ができる

乾田直播専用

アンカマン
DF

ハードパンチ
DF

ISK 石原産業株式会社
〒550-0002 大阪市西区江戸堀1丁目3番15号

販売 ISK 石原バイオサイエンス株式会社
〒112-0004 東京都文京区後楽1丁目4番14号