

# 花きの老化および形態の制御機構に関する分子生物学的研究

渋谷健市（農業・食品産業技術総合研究機構 花き研究所）

shibuken@affrc.go.jp

花きの消費拡大に向けて、高品質花きの創出が必要とされており、特に花持ちの良さへの消費者の要望は高い。そこで、花きの品質保持技術の開発を目指し、花卉の老化制御機構に関する研究を行った。本研究では、エチレンを介した花卉老化の器官間制御などを明らかにし、また、遺伝子組換えにより花の寿命が延長した形質転換体を作成した。さらに、同様に重要な品質構成要素の一つである花の大きさを含む形態の制御機構に関する解析を行い、花冠サイズの制御にサイトカイニンが関与していることを示した。また、花器官決定遺伝子の発現制御機構の解析を通して、DNAメチル化による新しい転写活性化機構を明らかにした。

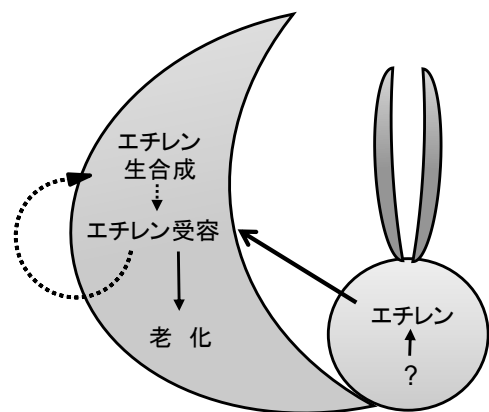
## はじめに

多くの植物では、花卉は授粉者を引き寄せる役割を果たしている。花卉は、受粉後あるいは受粉しなくても一定期間の後に老化し取り除かれるが、この老化の過程は、植物種ごとに厳密に制御されている。観賞の対象である花きでは、花持ちの良さが望まれており、効果的な品質保持技術を開発するためには、花の老化機構の解明が欠かせない。また、花色などの制御機構に関しては、多くの研究がなされてきたが、花の大きさ等の制御に関してはあまり理解が進んでいなかった。そこで、本研究では、花卉の老化と花形を制御する分子機構に関する研究を行った。

## 1. 花卉の老化制御機構に関する研究

カーネーションやペチュニア等の花きの老化には、植物ホルモンの一つであるエチレンが重要な役割を果たしている。本研究では、カーネーション切り花から雌蕊を除去すると、花卉におけるエチレン生合成が誘導されず萎れが起こらなくなることを見出し、雌蕊が花卉の老化を直接制御していることを証明した（第1図）<sup>1</sup>。また、カーネーション切り花における自己触媒的エチレン生成は、高温処理によって抑制され、それが主としてACC合成酵素活性の阻害に因ることを明らかにした<sup>2</sup>。

ペチュニアにおいて、エチレン情報伝達系因子であるEIN2ホモログ(PhEIN2)を単離し、花卉の老化が著しく遅延する形質転換体を作成した（第2図）<sup>3</sup>。PhEIN2形質転換体のエチレン応答の解析から、EIN2のエチレン情報伝達系における正の制御因子としての役割を一般化した。また、エチレン感受性の低下が、花の老化遅延に加え、不定根および根毛の形成阻害や、



第1図 カーネーションにおける花卉老化の器官間制御

カーネーションの自然老化時には、まず雌蕊でのエチレン生成が何らかの因子によって誘導される。そのエチレンが花卉で受容され、花卉における自己触媒的エチレン生合成と老化を誘導する。

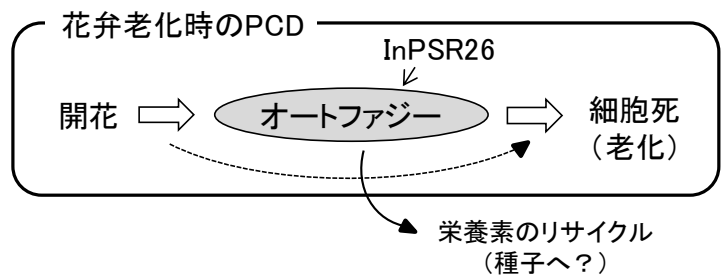
ストレス耐性の低下等、植物の生育において広範な影響を及ぼすことを明らかにした。



第2図 *PhEIN2* 発現抑制形質転換ペチュニアにおける花卉老化の抑制

受粉後2日目の野生型ペチュニア（左）と、受粉後8日目の *PhEIN2* 発現抑制形質転換体（右）。形質転換体では、受粉により子房が成長した後も、花卉の萎れは認められない。

花卉老化時に顕著なプログラム細胞死の特徴を示すアサガオを用いて、花卉の老化を制御する新規遺伝子の探索を行った。花卉老化時に発現量が変化する遺伝子群に関する組換え体を作成した結果、機能未知の膜タンパク質をコードする *InPSR26* の発現抑制形質転換体では、花卉の老化が早まり、プログラム細胞死の促進が認められた<sup>4</sup>。また、形質転換体の花卉では、細胞質構成成分の分解作用であるオートファジー活性が抑制されていた。これらの結果から、*InPSR26* がオートファジーの制御を介して花卉老化時のプログラム細胞死の進行に関与していることを明らかにし、花卉の老化制御機構に関する新たなモデルを提案した（第3図）<sup>5</sup>。



第3図 アサガオ花卉老化時における PCD のモデル  
花卉の老化時にオートファジーが誘導される。*InPSR26* はオートファジーの制御に関与しており、オートファジーが抑制されると早成な細胞死が起こる。

## 2. 花の形態制御機構に関する研究

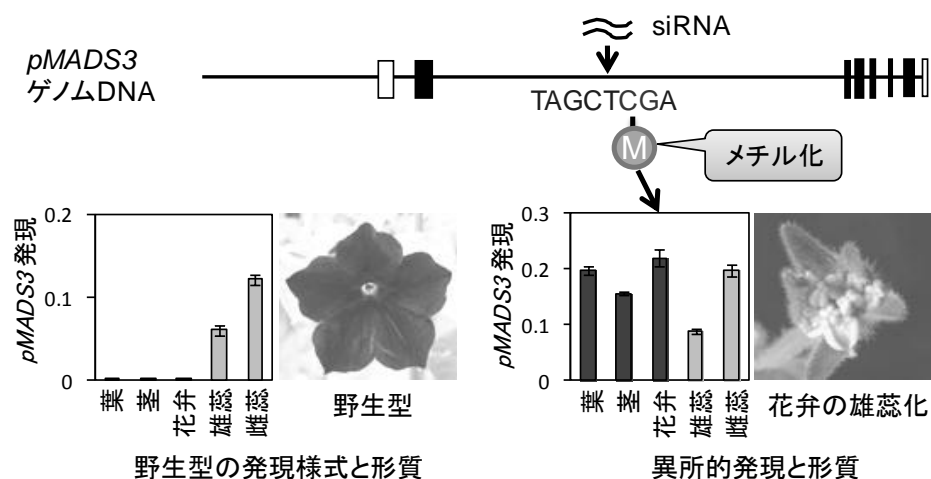
ペチュニアにおいて、アグロバクテリウム由来のサイトカイニン生合成系酵素遺伝子 (*ipt*) を、シロイヌナズナの *APETALA3* プロモーターを用いて花器官特異的に発現させた結果、花冠のサイズが拡大した（第4図）。これにより、花冠のサイズの制御にサイトカイニンが関与していることが示唆された<sup>6</sup>。

一方、ペチュニアの *pMADS3* は、雄蕊および雌蕊の形成に関与するクラス C 遺伝子であり、*pMADS3* の発現が抑制されると花卉が八重化することが知られている。本研究では、*pMADS3* の発現抑制に関与する制御配列（シス・エレメント）を見出した。また、この解析を通して、DNA メ



第4図 *ipt* 遺伝子導入によるペチュニア花冠サイズの拡大

チル化が遺伝子のサイレンシングだけでなく、転写の活性化にも関与するという、新たな遺伝子発現制御機構を発見した（第5図）<sup>7</sup>。さらに、DNAメチル化により改変された形質は、導入遺伝子が分離した後代でも維持されたことから、導入遺伝子を内包しない形質転換体の作出が可能であることを示した。



第5図 DNAメチル化による転写活性化

*pMADS3* の転写制御配列中のシトシンが siRNA を介してメチル化されると、*pMADS3* の花卉での異所的な転写が活性化され、花卉の雄蕊化が誘導される。

## おわりに

花卉の老化にエチレンが関与している花きでは、エチレンの作用を薬剤または遺伝子組換えにより阻害することで、花卉の老化を遅らせることができる。しかし、有効な品質保持技術が確立されていない花きも多い。花卉老化の制御機構を解明し、花きの効果的な品質保持技術の開発につなげたいと考えている。花には、色や形、開花など、変異を識別しやすい形質や現象が凝縮されている。これらに関する研究からは、例えば、RNAi の原理など、植物科学にとどまらず、生物学においても重要な発見がなされてきた<sup>8</sup>。今後も、基礎科学的な視点を持ちながら、実用的な技術開発を進めていきたい。

## 謝辞

本研究を行うにあたり、東北大学大学院農学研究科助教授（当時）の佐藤茂先生（現京都府立大学教授）には学生時代から終始親切なご指導をいただきました。フロリダ大学の Dr. David Clark と Dr. Harry Klee、（独）農業生物資源研究所の高辻博志博士には博士研究員として、また、（独）農研機構花き研究所では市村一雄博士をはじめとした方々に、温かいご指導とご支援をいただきました。東北大学、フロリダ大学、農業生物資源研究所、農研機構花き研究所でお世話になりました皆様、また、本研究を推進するにあたりご協力いただきましたすべての皆様に心より感謝いたします。

日本農学進歩賞の受賞にあたっては、園芸学会と農研機構花き研究所からご推薦をいただきま

した。金浜耕基会長、柴田道夫所長をはじめ関係の諸先生方に御礼申し上げます。

最後に、東北大学名誉教授で昨年ご逝去されました羽柴輝良先生には、在学中から厳しくかつ温かいご指導とご助言をいただきました。ここへ記して感謝の意を表します。

## 引用文献

1. Shibuya K, Yoshioka T, Hashiba T, Satoh S. Role of the gynoecium in natural senescence of carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) flowers. *J Exp Bot* 2000; 51:2067-73.
2. Shibuya K, Ichimura K. Depression of autocatalytic ethylene production by high-temperature treatment in carnation flowers. *J Japan Soc Hort Sci* 2010; 79:97-102.
3. Shibuya K, Barry KG, Ciardi JA, Loucas HM, Underwood BA, Nourizadeh S, Ecker JR, Klee HJ, Clark DG. The central role of PhEIN2 in ethylene responses throughout plant development in petunia. *Plant Physiol* 2004; 136:2900-12.
4. Shibuya K, Yamada T, Suzuki T, Shimizu K, Ichimura K. InPSR26, a putative membrane protein, regulates programmed cell death during petal senescence in Japanese morning glory. *Plant Physiol* 2009; 149:816-24.
5. Shibuya K, Yamada T, Ichimura K. Autophagy regulates progression of programmed cell death during petal senescence in Japanese morning glory. *Autophagy* 2009; 5:546-7.
6. Verdonk JC, Shibuya K, Loucas HM, Colquhoun TA, Underwood BA, Clark DG. Flower-specific expression of the *Agrobacterium tumefaciens isopentenyltransferase* gene results in radial expansion of floral organs in *Petunia hybrida*. *Plant Biotechnol J* 2008; 6:694-701.
7. Shibuya K, Fukushima S, Takatsuji H. RNA-directed DNA methylation induces transcriptional activation in plants. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106:1660-5.
8. Matzke MA, Matzke AJ. Planting the seeds of a new paradigm. *PLoS Biol* 2004; 2:E133.

## **Molecular mechanisms of petal senescence and morphogenesis in ornamental plants**

Kenichi Shibuya (NARO Institute of Floricultural Science)

shibuken@affrc.go.jp