

# 植物が栄養環境に応じて花を咲かせる仕組みを解明

～環境負荷の低い効率的な施肥と作物収量増産に期待～

## ポイント

- ・植物は生育環境中の窒素量に応じて、開花のタイミングを調節していることを実証。
- ・FBH4 タンパク質のリン酸化修飾が、窒素量に応じて開花を調節するスイッチであることを解明。
- ・土壌栄養環境に左右されずに安定した収量を得られる作物品種の開発に期待。

## 概要

北海道大学大学院理学研究院の佐藤長緒准教授、東京大学大学院総合文化研究科の阿部光知教授、京都大学大学院理学研究科の伊藤照悟助教、名古屋大学大学院生命農学研究科の木羽隆敏准教授、埼玉大学大学院理工学研究科の高木 優教授らの研究グループは、ワシントン大学の今泉貴登教授らとの国際共同研究で、植物が生育環境中の窒素量に応じて開花のタイミングを調節する仕組みを明らかにしました。

植物にとって窒素はもっとも必要量が多い栄養素で、窒素が欠乏すると植物は大きく成長できません。ただし、窒素を過剰に与えると、葉の成長が促進される一方で、花が咲きにくくなるのが古くから知られており、農作物の施肥管理においても重要な点になっています。しかし、こうした窒素に応答した開花制御の分子機構は長年謎のままでした。

本研究では、モデル植物シロイヌナズナを材料に、窒素量に応じた植物の開花制御に、転写因子<sup>\*1</sup> FBH4 タンパク質の働きが重要であることを発見しました。そして、FBH4 タンパク質の機能を調節する方法として、リン酸化修飾<sup>\*2</sup>が鍵となることを見つけました。通常、植物体内でFBH4 タンパク質は多くのリン酸化修飾を受けていますが、この度合いが窒素欠乏条件で育てた植物体内では顕著に減少していました。このFBH4 タンパク質のリン酸化修飾が、まさに開花のブレーキとなっていて、このブレーキが外れると「花咲かホルモン」である「フロリゲン<sup>\*3</sup>」が増加し、開花が誘導されることがわかりました。

本研究で得られた知見は、土壌中の窒素栄養環境に左右されずに成長と開花のバランスを保ち、安定した収量を得られる作物品種の開発に役立つことが期待されます。

本研究成果は、2021年5月7日（金）公開の *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 誌に掲載されました。



野生型シロイヌナズナ株及び FBH4 遺伝子とそのホモログ遺伝子の機能を抑制した変異株の開花時期の違い

## 【背景】

植物にとって窒素はもっとも必要量が多い栄養素です。窒素肥料は葉肥とも言われ、葉や茎など植物を大きく成長させる作用があります。しかし、窒素肥料を過剰に与えると、葉や茎が大きく育ちすぎてしまう一方で、花が咲きにくくなり、果実の生育が妨げられることで、かえって作物の収量が悪くなること（過繁茂）が知られています。また、化学肥料として大気中の窒素を固定するために、世界中で大量の電力を消費しており、余剰な施肥により投入された窒素は大気、土、水に放出されるため、深刻な環境負荷をもたらしています。もし、植物が窒素量に応じて葉の生育と開花のバランスを制御する仕組みを解明することができれば、施肥の最適化によって作物の収量増加や環境問題解決へ貢献することが期待されます。

モデル植物であるシロイヌナズナを用いた研究から、開花のタイミングは温度や日長といった複数の環境要因によって制御されていることがわかっています。多様な環境刺激に応じた開花制御の仕組みは複雑ですが、最終的に花咲かホルモンである「フロリゲン」が増加することが開花のスイッチになっています。しかし、窒素栄養環境が開花のタイミングに影響を与える仕組みは謎のままでした。

## 【研究手法】

窒素量に応じた開花制御の仕組みを明らかにするため、佐藤准教授らの研究グループは、窒素条件に応じて機能が変化するタンパク質を探しました。タンパク質は、リン酸化修飾といわれる翻訳後制御を受け、リン酸化状態はタンパク質機能を切り替える分子スイッチの役割をもつことが知られています。

研究グループは、これまでに、高感度質量分析計を用いたリン酸化プロテオミクス<sup>\*4</sup>という手法を駆使して、糖や窒素栄養を与えた場合に、植物細胞内のタンパク質リン酸化状態がどのように変動するかを網羅的に明らかにしています。この網羅解析データを精査し、FBH4 タンパク質という転写因子に着目しました。

そこで、野生型株と FBH4 タンパク質が機能しない変異株のシロイヌナズナを用い、窒素量の異なる環境下で生育した場合の分子遺伝学及び生化学的な解析を行うことで、窒素量がどのように植物の開花に影響を与えるかを探りました。

## 【研究成果】

本研究の結果、窒素欠乏環境下において、野生型株の開花が早期化することがわかりました。その一方で、FBH4 タンパク質が機能しない変異株では、窒素欠乏下においても開花が遅いままでした（p1.図）。

こうした異なる窒素環境下における FBH4 タンパク質のリン酸化状態を調べるために、タンパク質リン酸化部位に結合する特殊な化合物を用いた生化学的実験を行ったところ、FBH4 タンパク質は植物体内で多くのリン酸化修飾を受けていることがわかりました。しかし、窒素欠乏環境で育てた植物体内では、FBH4 タンパク質のリン酸化修飾の割合は著しく減少していました。

そこで、遺伝子配列を改変し、複数の部位におけるリン酸化が起こらない変異型 FBH4 タンパク質を作る植物を作り出して実験を行ったところ、花咲かホルモンである「フロリゲン」の合成が促進されることがわかりました。つまり、FBH4 タンパク質のリン酸化は、開花を制御するためのブレーキとして働いており、窒素欠乏下では、このブレーキが外れることで FBH4 が転写因子として活性化し、開花が早まるということが明らかになりました（図 1）。

さらに、FBH4 のリン酸化を行う酵素として SnRK1 タンパク質を同定しました。SnRK1 は、酵母（SNF1）からヒト（AMPK）まで進化的に広く保存されたタンパク質リン酸化酵素です。酵母やヒトでは、この酵素が細胞内の糖やエネルギー状態のセンサーとして機能し、生存に関わる重要な機能を有することが知られていますが、これまで植物体内での SnRK1 活性変動は未解明でした。

今回、独自に開発したレポーター系（図2）を用いることで、植物体内における SnRK1 活性変動が初めて検出可能となりました。このレポーター系を駆使した実験の結果、SnRK1 活性が窒素欠乏時に低下すること、これにより FBH4 のリン酸化度合いが減少し、開花を誘導することがわかりました（図1）。

本研究により、植物において、SnRK1 が体内窒素量の感知に関与し、開花を制御するというユニークな機能を有することが明らかになりました。

### 【今後への期待】

本研究では、窒素量に応じて植物が開花のタイミングを制御する分子メカニズムの解明に迫り、FBH4 という転写因子のリン酸化状態が鍵となることを明らかにしました。こうした現象に関わるリン酸化部位の保存性を調べていくことで、窒素施肥による開花の遅延や過繁茂が起こらない作物品種の効率的な選抜が可能になると考えられます。本研究で得られた知見は、土壌中の窒素濃度のばらつきに左右されずに安定した収量を得られる品種の開発や、施肥の最適化によって、化学肥料による環境負荷の軽減に貢献することが期待されます。

### 【謝辞】

本研究は、日本学術振興会科学研究費助成事業・基盤研究(C) (研究代表：佐藤長緒，課題番号 17K08190, 20K05949)，基盤研究(B) (研究代表：山口淳二，課題番号 26292188，18H02162)，特別研究員奨励費 (研究代表：眞木美帆，課題番号 19J21101)，公益財団法人北海道科学技術総合振興センター・若手研究人材 ネットワーク育成補助金 (研究代表：佐藤長緒)，国立大学改革強化推進補助金 (国立大学経営改革促進事業) の助成を受けた成果です。

### 論文情報

論文名	Low nitrogen conditions accelerate flowering by modulating the phosphorylation state of FLOWERING BHLH 4 in <i>Arabidopsis</i> (低窒素条件では FBH4 のリン酸化状態の調節を介してシロイヌナズナの花成が誘導される)
著者名	眞木美帆 <sup>1</sup> ，青山翔紀 <sup>1</sup> ，久保晃生 <sup>1</sup> ，陸 宇 <sup>1</sup> ，佐藤靖武 <sup>1</sup> ，伊藤照悟 <sup>2</sup> ，阿部光知 <sup>3</sup> ，光田展隆 <sup>4</sup> ，高木 優 <sup>5</sup> ，木羽隆敏 <sup>6</sup> ，中神弘史 <sup>7</sup> ，Filip Rolland <sup>8</sup> ，山口淳二 <sup>9</sup> ，今泉貴登 <sup>10,†</sup> ，佐藤長緒 <sup>9,†</sup> ( <sup>1</sup> 北海道大学大学院生命科学院， <sup>2</sup> 京都大学大学院理学研究科， <sup>3</sup> 東京大学大学院総合文化研究科， <sup>4</sup> 国立研究開発法人産業技術総合研究所， <sup>5</sup> 埼玉大学大学院理工学研究科， <sup>6</sup> 名古屋大学大学院生命農学研究科， <sup>7</sup> マックス・プランク植物育種学研究所， <sup>8</sup> ルーベン・カトリック大学， <sup>9</sup> 北海道大学大学院理学研究院， <sup>10</sup> ワシントン大学，†共同責任著者)
雑誌名	<i>Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America</i> (米国科学アカデミー紀要)
DOI	10.1073/pnas.2022942118
公表日	2021年5月7日(金) (オンライン公開)

## お問い合わせ先

北海道大学大学院理学研究院 准教授 佐藤長緒 (さとうたけお)

T E L 011-706-2742 F A X 011-706-2742 メール t-satou@sci.hokudai.ac.jp

U R L <https://www2.sci.hokudai.ac.jp/dept/bio/teacher/sato-takeo>

## 配信元

北海道大学総務企画部広報課 (〒060-0808 札幌市北区北8条西5丁目)

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール jp-press@general.hokudai.ac.jp

京都大学総務部広報課国際広報室 (〒606-8501 京都市左京区吉田本町36-1 時計台)

T E L 075-753-5729 メール comms@mail2.adm.kyoto-u.ac.jp

名古屋大学管理部総務課広報室 (〒464-8601 名古屋市千種区不老町)

T E L 052-789-3058 F A X 052-789-2019 メール nu\_research@adm.nagoya-u.ac.jp

埼玉大学広報渉外室 (〒338-8570 埼玉県さいたま市桜区下大久保255)

T E L 048-858-3932 F A X 048-858-9057 メール koho@gr.saitama-u.ac.jp

## 【参考図】

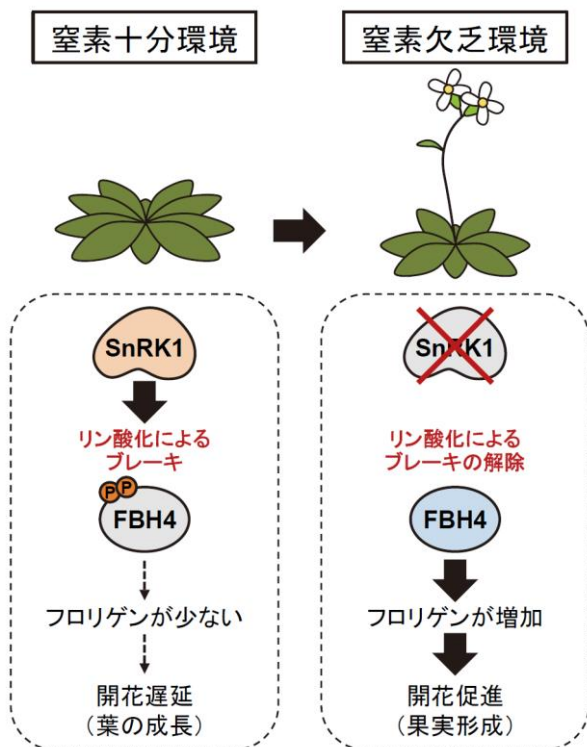


図 1. シロイヌナズナにおける窒素応答性開花を制御する分子メカニズムのモデル

## 【人工ペプチドACCレポーター】

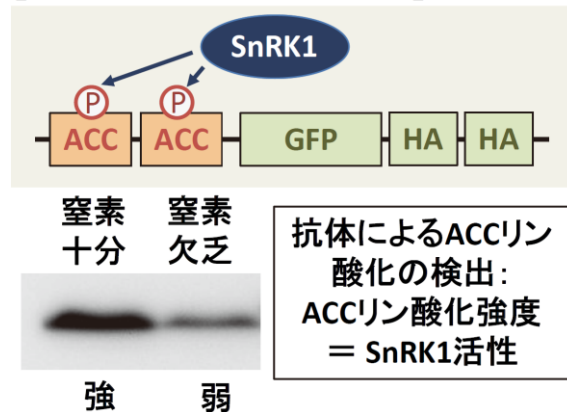


図 2. 植物体内における SnRK1 活性検出レポーター「ACC レポーター」の開発 SnRK1 がリン酸化する ACC ペプチドを含む人工的な標的タンパク質を作る植物株を作成し、ACC リン酸化強度を調べることで、SnRK1 活性を評価する。図中「P」はリン酸化を意味する。

### 【用語解説】

- \*1 転写因子 … 遺伝子の転写制御に関わるタンパク質。生命の設計図として機能する DNA に結合し、遺伝情報の読み取り、機能発現を制御する。
  
- \*2 リン酸化修飾 … タンパク質の翻訳後機能制御の一つ。タンパク質内の特定のアミノ酸にリン酸基が付与されることで、タンパク質機能を制御するシグナルとしての役割を果たす。
  
- \*3 フロリゲン … 花咲かホルモンとして知られる分子で、植物の開花を誘導する。シロイヌナズナにおいては、FT というタンパク質がその分子実態である。
  
- \*4 リン酸化プロテオミクス … 高感度質量分析計を用いて、細胞内タンパク質のリン酸化状態を網羅的に解析する手法。近年、質量分析計の高性能化に加えて、生物のゲノム情報データベースやビッグデータ解析手法の進歩に伴い、多様な生物種において、細胞内のタンパク質機能を包括的に理解するための手法として活用される。