

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 23 日現在

機関番号：87110

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23780037

研究課題名(和文) イチジクの連続着果性を制御する花成分子機構の解明

研究課題名(英文) Molecular mechanism of flowering that controls the continuous fruit-bearing behavior of fig (*Ficus carica* L.)

研究代表者

池上 秀利 (IKEGAMI, Hidetoshi)

福岡県農業総合試験場・その他部局等・研究員

研究者番号：40502414

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円、(間接経費) 1,020,000円

研究成果の概要(和文)：イチジクは他の多くの果樹と異なり1年の中での着果期間が長く、特異な結果習性を有している。このような結果習性の背景が明らかになれば、新規な花成制御機構の解明につながると共に、他の作物における花成期間の制御に応用できる可能性がある。しかし、その詳細は明らかでない。本研究では、イチジクのフロリゲン遺伝子候補FcFT1を含む花成関連遺伝子群について解析を実施するとともに、FcFT1上流制御因子の探索と関係解明を試みた。その結果、フィトクロムB遺伝子領域におけるトランスポゾン様の挿入配列が、FcFT1の日長感受性喪失を介してイチジクの長期的花成に関与している可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Fig tree has a long fruit setting period in the one year and a peculiar bearing habit unlike the many other fruit trees. If background of such bearing behavior becomes apparent, it may lead to the elucidation of flowering control novel mechanism and it can be applied to the flowering period control in other crops. However, the details are not understood. In this study, we performed the analysis on the flowering-related genes, including a fig's FT gene, FcFT1, as the florigen gene candidate, attempted to search FcFT1 upstream regulator and elucidate the relationship. As a result, we suggested that insertional mutagenesis of transposon-like sequence in phytochrome B gene, may be involved in long flowering fig through the photoperiod sensitivity loss of FcFT1.

研究分野：園芸学・造園学

科研費の分科・細目：園芸科学

キーワード：イチジク 花成 連続着果 花成遺伝子 FcFT1

### 1. 研究開始当初の背景

リンゴやカキ等を含む多くの果樹では1年のうちの特定の時期に一斉開花し、その後着果・結実するのに対し、イチジクでは春先に新梢が伸長するに従い、新梢の下位節から上位節に向け時期をずらして連続的に着果し続け、休眠期以外の全ての期間を通じて花成誘導能を有するという、特異な結果習性を持っている。このようなイチジクに特徴的な花成現象は、これまでシロイヌナズナ等で明らかにされている一定の日長や温度等の条件に反応して斉一的に花成が誘導されるといったモデルによる説明は難しいと考えられる。さらに、イチジクの花成に関わる分子遺伝学的な知見はこれまで全く得られていなかった。

近年、シロイヌナズナやイネを対象とした分子遺伝学的な研究の進展により、植物の花成制御に関する理解が深まっているが、イチジクの花成の特異性は、モデル植物においてこれまで得られている知見とイチジクで得られたデータを比較することで明らかになると考えられる。

### 2. 研究の目的

本研究では、イチジクに見られる連続的・周期的に着果(花成)する習性を支配する花成分子機構を明らかにする。

予備試験の結果では、多くの植物で花成をコントロールすることが知られるフロリゲン遺伝子のイチジクホモログである *FcFT1* の葉における発現時期がイチジクの花成時期と大きく重なっていることが分かった。一方で、その他のフロリゲン遺伝子ホモログが存在するのか、存在する場合それらもイチジクの長期的花成に関与しているのかは不明であった。そこで、最初にイチジクフロリゲン遺伝子の絞込み及びフロリゲン遺伝子とその他の遺伝子との関係を整理することにした。その後、*FcFT1* の発現を支配する上流制御因子を明らかとすることにした。

### 3. 研究の方法

代表者は過去の研究でイチジクの葉と果実に由来するトランスクリプトーム情報を既に取得していた。そこで、新たに枝のトランスクリプトーム情報を収集し、これをもとに包括的な発現遺伝子カタログを作成した。次に、シロイヌナズナの配列をクエリとした発現遺伝子カタログに対する Blast 検索により、*FcFT1* を含む花成遺伝子ホモログ群を広く同定した。同定した花成関連遺伝子群については、リアルタイム定量 RT-PCR 解析を行い、それらの発現パターンとイチジク花成形質との関係を検証した。イチジクで同定された *FT* 遺伝子群については、シロイヌナズナを用いた機能解析実験を実施した。

*FcFT1* 上流制御因子の探索では、光依存経路上遺伝子のゲノム配列を調査するとともに、*FcFT1* 発現量が異なる試料のトランスク

リプトーム情報を取得し、*FcFT1* と発現量が連動している遺伝子の探索を行った。

### 4. 研究成果

最初にイチジクの EST およびゲノム配列のデータベースを構築し、その中からイチジク PEBP 遺伝子群を探索した。その結果、少なくとも *FT* ホモログが3種、*TFL1* ホモログが3種、*MFT* ホモログ2種の計8種類の遺伝子が存在することが明らかとなった。さらに、シロイヌナズナで報告されている花成関連遺伝子群のホモログを多数同定した。

この中で *FT* 遺伝子を含む17種類の花成遺伝子ホモログの発現について、季節を通じたリアルタイム定量 RT-PCR 解析を実施したところ、*FcFT1* の発現は5月に発現量が大きく上昇し、夏にピークを示した後、秋にかけて徐々に低下することが確認された( )のに対し、*FcFT2* が5月と9-10月に、*FcFT3* が5月だけで強く発現した。*FcGI* および3種の *FcCO* ホモログでは、いずれも5月に発現量が大きく上昇し、その後秋にかけて徐々に増加することが分かった。その他の遺伝子においては、*FcGI*・*FcCO* と同様の傾向を示すものが多く認められた。また、イチジクの花芽分化時期を調査したところ、前年結果の頂芽では花芽分化は見られなかったが、5月中下旬の新梢の腋芽部位で分化が認められ、その後花芽分化は夏まで継続した( )。シロイヌナズナ形質転換実験の結果からは、3種 *FT* 遺伝子のいずれもが花成促進機能を有することが示唆された( )。上記の結果から、*FcFT1* がイチジク花成の鍵遺伝子である可能性が改めて推定された。

そこで *FcFT1* の発現と光条件との関係について、さらに詳細な解析を行ったところ、*FcFT1* が相対的長日条件(16L/8D)と相対的短日条件(8L/16D)の両条件で誘導され、連続暗期条件(DD)では誘導されなかったこと(Ikegami et al., 2013)( )、*FcFT1* の花序分化部位での発現量がイチジクの花序の分化・発育段階と強い相関( $r^2=0.67-0.92$ )を示すこと( )等が新たに明らかとなった(池上ら, 2013)。

から の結果を総合すると、*FcFT1* がイチジクの主要な花成・着果制御因子であり、そのメカニズムとして日長に非依存的な光による *FcFT1* の発現誘導がイチジクの長期的花成の原因となっていることが強く示唆された。ただし、葉と花序分化部位における *FcFT1* の発現がイチジクの花序分化においてそれぞれどのような役割を有しているか、また、*FcFT2* と *FcFT3* がイチジク花成にどのように寄与しているかについては現時点で明らかでない。

さらに、*TFL1* ホモログ発現量の解析では、*FcTFL1-1* が茎頂の頂芽で新梢の伸長に伴い発現量を増加させ、*FcTFL1-2* が花序分化前の

腋芽部位で発現量が高かった。このことから *FcTFL1-1* が新梢の伸長に参与していること、および *FcTFL1-2* が花芽分化の抑制に参与していることが予想された。結果始めの結果枝においては、下位節の腋芽で *FcFT1* 発現量が高く *FcTFL1-2* の発現量が低いのにに対して、上位節の腋芽では *FcTFL1-2* の発現量が高く *FcFT1* 発現量が低いことから、*FcFT1/FcTFL1* の発現量比が花芽分化の決定要因となっていることも考えられる。

次に、*FcFT1* が長期的発現を示す原因となっている遺伝子を明らかにするため、(A.) *FcFT1* の上流制御因子が存在すると想定される光依存経路上の遺伝子群の検索と配列解析、および(B.)次世代シーケンサーを用いたトランスクリプトーム解析による *FcFT1* と相関して発現する遺伝子の探索の2通りのアプローチで行った。

A. では、フィトクロム B 遺伝子のシグナル伝達に必須である RAS ドメイン(Matsushita et al., 2003)の一部に 30 塩基(10 残基)の挿入配列が存在することを見出した(図 2; 未発表データ)。本挿入配列は pol タンパク質(ウイルス逆転写酵素)遺伝子と相同性を有しており、本挿入配列が可動性を失ったレトロトランスポゾンの断片がフィトクロム B 遺伝子機能を喪失させている可能性が示唆された。シロイヌナズナにおいてはフィトクロム B 遺伝子が CONSTANS (CO) タンパク質の機能抑制を通じて、*FT* 遺伝子発現に負に作用していること(Endo et al., 2005)、シロイヌナズナやイネ等のフィトクロム B 遺伝子変異体では、花成の日長反応性を喪失し、*FT* 遺伝子が長日・短日のいずれの条件においても活性化することが報告されている(Más et al., 2000; Osugi et al., 2011)。これらの知見はイチジクにおいてフィトクロム B 遺伝子のシグナル伝達領域に挿入変異が発生したことによって CO タンパク質機能の脱抑制が生じ、その結果として *FcFT1* 発現の日長感受性に影響を与えた可能性を示唆した。さらにイチジクと同じく長期的花成様式を示す他のイチジク属植物(イタビとイヌビワ)においてフィトクロム B 遺伝子領域のゲノム PCR を行った結果、イチジクと同サイズの産物が検出されたことから、同変異がイチジク属の植物に広く分布している可能性も考えられる。

B. では、*FcFT1* の発現と連動する既知花成関連遺伝子を探索した結果、正負のそれぞれで相関の強い複数の遺伝子をこれまでにスクリーニングした。一方で、未知の遺伝子群については解析が未実施であり、また、基準となる *FcFT1* の発現パターンの再設定によりスクリーニングの精度をさらに高める必要があることから、現在追加解析を実施中である。

今後は実際にイチジクのフィトクロム B 遺伝子が *FcFT1* の発現やイチジク花成の原因であるかを明らかにするために、フィトクロム

B 変異体を用いた機能解析等を進める必要がある。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

### [雑誌論文](計1件)

Ikegami H., Nogata H., Inoue Y., Himeno S., Yakushiji H., Hirata C., Hirashima K., Mori M., Awamura M. and Nakahara T. Expression of *FcFT1*, a FLOWERING LOCUS T-like gene, is regulated by light and associated with inflorescences differentiation in fig (*Ficus carica* L.). *BMC Plant Biology*. 13(216) (2013) 査読あり

### [学会発表](計4件)

池上秀利、姫野修一、井上義章、野方仁、薬師寺博、イチジクの結果枝各節における花序の分化・発育ステージの差異と *FcFT1* 発現の関係 園芸学会平成25年度秋季大会 2013.9.20、盛岡市

池上秀利、イチジクの連続着果性を制御する花成分子機構の解明 2013年度ゲノム支援拡大班会議 2013.8.28 神戸市

池上秀利、森一樹、羽生剛、平田千春、野方仁、井上義章、姫野修一、薬師寺博、平島敬太、田代康介、久原哲、イチジクにおける PEBP 遺伝子ファミリーの同定 園芸学会平成25年度春季大会 2013.3.23 小金井市

池上秀利、野方仁、平島敬太、井上義章、姫野修一、持続的発現性を示すイチジク由来花成促進因子 *FcFT1* 園芸学会平成24年度秋季大会 2012.9.22 福井県吉田郡

### [図書](計0件)

### [産業財産権]

出願状況(計0件)

### [その他]

ホームページ等：  
<http://farc.pref.fukuoka.jp/organization/biotech/index.html>

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

池上 秀利 (IKEGAMI HIDETOSHI)  
福岡県農業総合試験場・研究企画部・バイオテクノロジー課・研究員  
研究者番号：40502414