

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月10日現在

機関番号：82111
 研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2009～2011
 課題番号：21780029
 研究課題名（和文）キクの花成を制御する遺伝子ネットワークの解明
 研究課題名（英文）The gene network regulating flowering in chrysanthemum
 研究代表者
 小田 篤（ODA ATSUSHI）
 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構・花き研究所・花き研究領域・主任研究員
 研究者番号：00375437

研究成果の概要（和文）：キクから花成関連遺伝子を単離して解析した。その中で、*CsFTL3* が花成を誘導する短日条件下の葉において遺伝子発現が誘導されることを見いだした。*CsFTL3*は茎頂部の花芽分化を誘導する機能を持ち、キクにおける花成ホルモンをコードしていることを明らかにした。

研究成果の概要（英文）： The flowering related genes were isolated from chrysanthemum. The induction of *CsFTL3* under short day condition is essential for the flowering in chrysanthemum. Here, *CsFTL3* gene was revealed to encode florigen in chrysanthemum.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	700,000	210,000	910,000
2010年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：園芸学・造園学

キーワード：キク・花成・短日植物・温度反応・遺伝子発現

1. 研究開始当初の背景

シロイヌナズナやイネなどのモデル植物では、変異体を使った遺伝学的な解析から花成に関わる重要な因子が発見されている。2007年には長年未知とされていた花成ホルモンの実態がFT/Hd3aタンパク質であることが明らかにされた。キクは我が国で最も多く生産されている花きであり、短日植物である性質を利用して開花を制御し、計画生産が行われている。しかし、キクの栽培品種のほとんどが六倍体の染色体構造を持つことから、キクの花成を制御する分子基盤は未解明であった。

2. 研究の目的

キクの花成に関わる遺伝子を単離解析することで、長日植物のシロイヌナズナと短日植物のイネで得られている知見と比較し、相違点を明らかにする。得られた結果から明らかにされるキクの花成を制御する遺伝子ネットワークはキクの効率的な栽培技術の確立と画期的な育種法を開発する普遍的な土台となることが期待できる。

3. 研究の方法

染色体構成が二倍体のキクタニギクにおいて発現する全 mRNA の網羅的配列データベースから花成関連遺伝子を抽出し、全長配列

を RACE 法または TAIL-PCR 法によって核と期した。花成関連遺伝子の発現をリアルタイム PCR 法によって解析した。さらに、候補遺伝子を過剰発現するシロイヌナズナおよび、キクを作成し、花成非誘導条件において形質を調査した。

4. 研究成果

キクタニギクから花成ホルモンをコードしていることが提唱されている *FT* と相同性を示す配列を 3 種類見出し、*CsFTL1*、*CsFTL2*、*CsFTL3* と名付けた。発現解析の結果から *CsFTL3* の発現が花成を誘導する短日条件の葉において上昇し、*CsFTL1* と *CsFTL2* の発現は低下した (図 1)。*CsFTL3* を過剰発現するシロイヌナズナ形質転換体は花成非誘導条件の短日条件において、野生型に比べ早咲き形質を示した。また、*CsFTL3* を過剰発現するキク形質転換体は花成非誘導条件の長日条件においても花芽分化および、開花がみられた (図 2)。

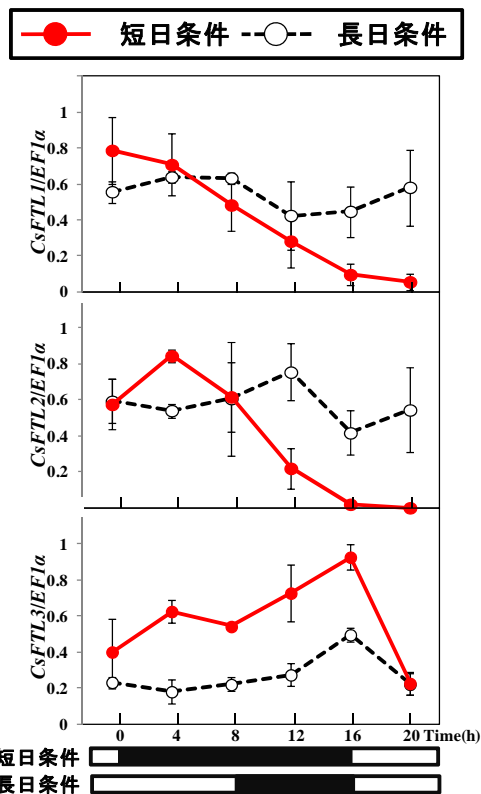


図 1. キクの *FT* 相同遺伝子 (*CsFTL1*、*CsFTL2*、*CsFTL3*) の発現

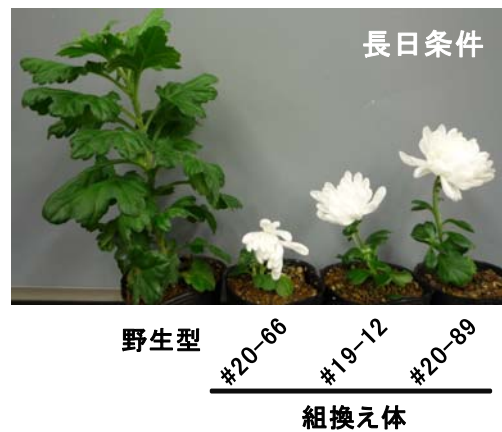


図 2. *CsFTL3* を過剰発現する組換え体

CsFTL3 を過剰発現する形質転換体または野生型を台木として、野生型の穂木を接ぎ木した。野生型台木と野生型穂木を接ぎ木した植物体は栄養成長を続け、花芽分化は確認されなかったが、*CsFTL3* 過剰発現体を台木として、野生型の穂木を接ぎ木し、穂木に形成される葉を取り除くことによって、穂木の茎頂部に花序分裂組織が形成された (図 3)。しかし、開花には至らなかった。このことから *CsFTL3* はキクにおいて花成ホルモンをコードしていることが示された。また、小花の分化、発達には花序分裂組織の分化よりも多くの *CsFTL3* が必要である可能性がある。

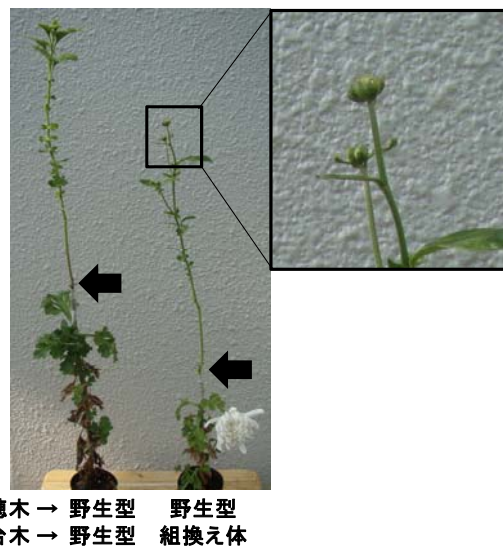


図 3. *CsFTL3* を過剰発現する台木による野生型穂木の花成誘導 (矢印は接ぎ木面を示す)

CsFTL3 を過剰発現するキク形質転換体は長日条件で長期間育成し続けると花成が抑制される休眠状態になった。この花成抑制状態の *CsFTL3* 過剰発現体は 4 週間の低温処理をすることによって、早咲き形質が回復した。

このことから、キクの休眠時には *CsFTL3* の機能を抑制する因子の存在が明らかになった。

それぞれ約 12 時間と 14 時間の限界日長をもつキク品種‘神馬’、‘ルグラン’および、限界日長をもたない‘雪舟’を実験に用いた。各品種を 12 時間、14 時間、16 時間、20 時間の日長条件で栽培し、*CmFTL3* の発現を調査した。‘神馬’における *CmFTL3* は 14 時間以下の日長条件で日長の短縮により段階的に発現が上昇した。‘ルグラン’における *CmFTL3* の発現量は 16 時間以上の日長条件では低かったが、14 時間以下の日長条件では明期に高くなっていた。‘雪舟’における *CmFTL3* の発現は日長条件による影響がみられなかった。以上のことから、*CmFTL3* の発現上昇がキクの花芽分化を誘導する主要な要因となっており、各品種の日長反応性の違いは *CmFTL3* の発現誘導機構の多様性に起因する可能性がある。

本研究では概日リズムを制御する *LHY*、*TOC1*、*GI* と同源性を示す *CsLHY*、*CsTOC1*、*CsGI* 遺伝子をキクタニギクから単離した。また、*FT* の発現を制御することが知られている *CO*、*SVP* と同源性を示す *CsCOL1*、*CsCOL2*、*CsASL1*、*CsASL2* 遺伝子をキクタニギクから単離した。*CsLHY*、*CsTOC1*、*CsGI* 遺伝子の発現は概日リズム振動を刻んでいた。また、*CsCOL1*、*CsCOL2* の発現は概日リズムの制御下にあった。一方、*CsASL1*、*CsASL2* 遺伝子の茎頂部付近における発現は短日条件下で低下した。これらの遺伝子の機能解析を現在進めているところであり、近い将来、キクの花成を制御する遺伝子ネットワークの全容を明らかに出来る予定である。

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 2 件)

- ① Atsushi Oda, Takako Narumi, Tuoping Li, Takumi Kando, Yohei Higuchi, Katsuhiko Sumitomo, Seiichi Fukai, and Tamotsu Hisamatsu (2012) *CsFTL3*, a chrysanthemum *FLOWERING LOCUS T-like* gene, is a key regulator of photoperiodic flowering in chrysanthemums. Journal of Experimental Botany 63:1461-1477 査読有 doi:10.1093/jxb/err387
- ② 小田篤、住友克彦、常見高士、道園美弦、本岡竹司、久松完 (2010) 7 月・8 月咲きコギクの花芽分化・発達における日長反応の品種間差 園芸学研究 9:93-98 査読有

<http://www.jshs.jp/>

[学会発表] (計 12 件)

- ① 小田篤、鳴海貴子、樋口洋平、住友克彦、深井誠一、久松完 キクの *FT/Hd3a* 様遺伝子 *CsFTL3* は花序分裂組織の分化と花器官の分化・発達を段階的に制御する 日本植物生理学会 2012 年 3 月 17 日 京都
- ② 樋口洋平、小田篤、住友克彦、久松完 キクの光周性花成における日長認識モデルの推定 日本植物生理学会 2012 年 3 月 17 日 京都
- ③ 小田篤、神門卓巳、久松完 キクタニギクの花周期依存的な花序ならびに花器官の分化・発達と花芽形成関連遺伝子の動態 園芸学会 2011 年 9 月 25 日 岡山
- ④ 鳴海貴子、小田篤、渡邊修一、中野善公、久松完、深井誠一 効率的な形質転換キク作出技術の開発 園芸学会 2011 年 9 月 25 日 岡山
- ⑤ 住友克彦、樋口洋平、小田篤、宮前治加、山田真、石渡正紀、久松完 暗期中断によるキクの花成および *FT* 様遺伝子発現抑制における分光感度 園芸学会 2011 年 9 月 25 日 岡山
- ⑥ 小田篤、鳴海貴子、樋口洋平、深井誠一、久松完 キクの花芽分化、花器官の発達を制御する *FT/Hd3a* 様遺伝子 *CsFTL3* の解析 日本植物生理学会 2011 年 3 月 21 日 仙台
- ⑦ 樋口洋平、小田篤、住友克彦、鳴海貴子、深井誠一、久松完 キクタニギクにおける分子遺伝学的解析ツールの基盤整備 日本植物生理学会 2011 年 3 月 20 日 仙台
- ⑧ 小田篤、鳴海貴子、深井誠一、久松完 キクタニギクから単離した *FT/Hd3a* 相同遺伝子 *CsFTL3* の機能解析 園芸学会 2010 年 9 月 20 日 大分
- ⑨ 住友克彦、樋口洋平、小田篤、青木猷、山田真、石渡正紀、鳴海貴子、深井誠一、久松完 キク花成の暗期中断反応におけるフィトクロームの関与および分光感度 園芸学会 2010 年 9 月 20 日 大分
- ⑩ 小田篤、神門卓巳、久松完 キクタニギクの花芽分化開始と花器官の発達における日長要求性と関連遺伝子の発現解析 日本植物生理学会 2010 年 3 月 20 日 熊本
- ⑪ 樋口洋平、小田篤、住友克彦、久松完 キクの光周性花成誘導反応における赤色光・青色光の役割 日本植物生理学会 2010 年 3 月 20 日 熊本
- ⑫ 小田篤、久松完 限界日長の異なるキクタニギクを用いた光周性花成誘導機構の解析 園芸学会 2009 年 9 月 27 日 秋

田

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小田 篤 (ODA ATSUSHI)

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究
機構・花き研究所・花き研究領域・主任研
究員

研究者番号：00375437