

令和 3 年 6 月 28 日現在

機関番号：24201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K05628

研究課題名(和文) アジサイにおける異形型の花弁状がく片の形成機構の解明

研究課題名(英文) Elucidation of the mechanism of petaloid sepal formation in polymorphic flowers of hydrangea

研究代表者

上町 達也 (Uemachi, Tatsuya)

滋賀県立大学・環境科学部・准教授

研究者番号：40243076

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：花弁状がく片をもつ双子葉植物は、観賞期間が長く、独特な美しさを持つことが多く、観賞植物として広く利用されている。本研究では、双子葉類における花弁状がく片の形成メカニズムを明らかにすることを目的に、がく片の形状の異なる2種類の花を1つの花序内に着生するアジサイを用いて、花形成時の遺伝子発現解析を行った。装飾花と非装飾花における遺伝子発現比較の結果、花弁状がく片の表現型に関わることが推定される遺伝子が特定された。これらの遺伝子の機能から、アジサイにおける花弁状がく片形成は、がく片の花弁化よりもむしろ葉化により促されるものと考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

花弁状がく片をもつ双子葉植物は、観賞期間が長く、独特な美しさを持つことが多く、観賞植物として広く利用されている。しかしこのような花弁状がく片が形成されるメカニズムは明らかとなっていない。本研究では、がく片の形状の異なる2種類の花を1つの花序内に着生するアジサイを用いて、がく片の花弁化に関わる遺伝子を調査した。その結果、花弁状がく片形成に関わることが推定される遺伝子が特定された。これらの成果は、スターチスやヘレボラスなどの観賞植物における花弁状がく片形成のメカニズムの解明に寄与するとともに、観賞期間の長い新たな観賞植物の育成に寄与するものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Many dicotyledons with petaloid sepals have a long vase life and a unique beauty. Therefore, these are widely used as ornamental plants. In this study, we analyzed gene expression during flower formation using hydrangea, which has two types of flowers with different sepal shapes within its inflorescence, for the purpose of clarifying the mechanism of petaloid sepal formation in dicotyledons. As a result of comparing gene expression between decorative and non-decorative flowers, genes that are presumed to be involved in the phenotype of petal-like sepals were identified. From the functions of these genes, it was considered that the formation of petaloid sepals in hydrangea was promoted by the conversion of sepals into leaves rather than into petals.

研究分野：園芸学

キーワード：花弁状がく片 弁化 観賞期間 装飾花 八重咲き 手まり咲き がく片

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

植物には、雄ずいやがく片などの花弁以外の花器官が花弁状となった花を着生するものが存在する。雄ずいやがく片が花弁状となる場合、花弁と同形の器官が形成されることが多く、そのような花は八重咲きとなる(八重咲きのサクラやストックなど)。一方、がく片が花弁状となる場合、双子葉植物ではその形態変化に関して二つの型が存在する。一つ目の型は、がく片が花弁と同形の器官に変化するものであり、雄ずいやの花弁化の場合と同様に八重咲きの表現型となる(八重咲きツツジや八重咲きホタルブクロなど)。二つ目の型は、がく片が花弁とは異形の花弁状器官に変化するものである。異形型の花弁状がく片を持つ花は、八重咲きとは異なる美しさをもつ。またこれらの異形型の花弁状がく片の中には、がく片が本来もっている、開花後も散らない性質を残しているものが多く存在する。このような花を持つ植物種は観賞期間が非常に長いので、切り花、鉢物、花壇植物などに広く利用されている(スターチス、アジサイ、ヘレボラスなど)。

花弁と同形型の花弁状がく片が形成される分子メカニズムは、雄ずいやの花弁化やチューリップ、ユリなどの単子葉植物の外花被の形成メカニズムと共通点が多く、現在、いくつかの植物種で解明されつつある。しかし花弁と異形であり、散りにくい性質をもつ花弁状がく片が形成されるメカニズムに関しては、ほとんど明らかにされていない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、異形型の花弁状がく片の形成機構の解明である。これまでに異形型の花弁状がく片の形成機構が解明されていない要因として、実験に適した研究材料が非常に少ないことが挙げられる。分子学的研究のモデル植物として用いられるシロイヌナズナ、キンギョソウ、タバコなどでは、花弁と異なる形態で、散りにくい性質を併せ持つ花弁状がく片を表現型にもつ突然変異体がこれまでに得られていない。一方、スターチスやヘレボラスなど異形型花弁状がく片をもつ植物種の多くは、花弁化していないがく片を着生する変異体が得られていないため、がく片の花弁化のメカニズムの研究が難しい。

本研究の特徴は、双子葉植物における異形型花弁状がく片の形成機構を解明するためにアジサイを研究材料に用いることにある。アジサイは、1つの花序内に花弁化したがく片をもつ小花(装飾花)と、花弁化していないがく片をもつ小花(非装飾花)が着生する。どちらの花も同じ一つの個体内に着生するため、装飾花と非装飾花のがく片の遺伝的背景が同じであり、遺伝子発現の比較によりがく片の花弁化の機構が明らかになるものと考えられる。またアジサイの八重咲きでは、装飾花において、花弁ではなく花弁状がく片が多層化している。そのため、一重咲き花と八重咲き花における遺伝子発現の比較により、花弁状がく片の形成と多層化のメカニズムが明らかになるものと考えられる。更に、アジサイには花序における装飾花の着生パターンについて、額咲き型と手まり咲き型の2種類が存在する。額咲き型と手まり咲き型の花芽の遺伝子発現を比較することにより、装飾花と非装飾花の咲き分け、すなわち、がく片の花弁化を制御する上流の遺伝子が明らかになることが期待される。

3. 研究の方法

(1) これまでに、アジサイ額咲き品種‘Blue Sky’とその枝変わりである手まり咲き変異挿し木繁殖系統‘BM-1’の花芽の RNA-Seq 解析により得られたロングリードデータなどを用いて、29,270 種類の EST 参照配列を構築している(園芸研 14 別 2 : 512)。この EST 配列に含まれる 7 種類の SEP 様配列についてプライマーを設計し、アジサイの一重咲き品種と八重咲き品種の装飾花および非装飾花について、リアルタイム RT-PCR 法による発現解析を行った。

(2) アジサイの花芽、小花、葉などを用いた Iso-seq 解析(PacBio Sequel)により、新たにリファレンス配列を構築した。八重咲きと一重咲きの装飾花と非装飾花の合計 6 サンプルを用いて、ショートリードの RNA-seq (Illumina) を行い、リファレンスへのマッピングによる発現比較解析を行った。また、花弁状がく片の形成と API 相同遺伝子および SEP 相同遺伝子との関係を明らかにするために、リファレンス配列とアジサイゲノムデータベース(データベースの構築において、本研究の RNA-Seq 解析データが遺伝子予測に用いられている)をもとに、花芽で働いている API 相同遺伝子および SEP 相同遺伝子の isoform 配列とその遺伝子座の特定を行い、さらにショートリードの RNA-Seq による発現解析を行った。

(3) 2 組の花房型変異系統を用いた RNA-Seq 解析データを用いて、花房型の変異に関与している可能性のある候補遺伝子の探索を行った。さらに、1 組の花房型変異系統を用いて、PacBio SequelIII でのシーケンズを行い、原品種と突然変異系統のゲノム配列に関する HiFi リードを得た。

4. 研究成果

(1) 一重咲き品種と八重咲き品種の装飾花および非装飾花について、リアルタイム RT-PCR 法

及び RNA-Seq による発現解析を行った。装飾花は非装飾花に比べて、6 個の *SEP* 相同遺伝子座のうちの 4 個で発現が抑制されており、*SEP4* 系統群に属する 1 個の遺伝子座で発現が促進していることが明らかとなった。

(2) Iso-seq 解析により新たに構築したリファレンス配列を用いて、装飾花と非装飾花間で RNA-Seq 発現比較を行った。八重咲き型 1 品種と一重咲き野生種 1 系統において、共通して装飾花と非装飾花間で発現量に差 ($FDR < 0.05$) がある isoform が 315 個特定された。これらの中には、*LEAFY* 相同遺伝子や、MADS-box 型転写因子、*RADIALIS* 相同遺伝子、MYB 型転写因子など 33 個の転写因子が確認された。これらの遺伝子の働きにより、装飾花と非装飾花の形態的な違いが生じることが示唆された。装飾花では花弁形成に関わるクラス B 遺伝子の発現が低下していた。装飾花で発現量が低下している遺伝子から推察した場合、アジサイの花弁状がく片形成は、がく片の花弁化よりもむしろ葉化によるものと考えられた。

(3) 八重咲き表現型に関与する遺伝子の探索のために、一重咲き野生種 1 系統‘新島’と八重咲き 2 品種の装飾花について発現量の比較を行った。一重咲きと八重咲きで発現量に差の認められた isoform は約 3000 個で、*AP1* 相同遺伝子、*PI* 相同遺伝子、*SEP4* 相同遺伝子などが含まれていた。

(4) RNAseq ショートリードデータをもとに trinity により構築された転写産物アイソフォームの中で、構造が類似しており 1 つの変異により生じたと思われる 2 種類のアイソフォームで、原品種と突然変異系統で発現量に差があるものを探索した。その結果、2 組の花房型変異系統において、それぞれ 51 組と 30 組の配列が特定された。さらに、これまでに奈島らが行った花房型に関する QTL 解析データを用いて絞り込みを行った結果、花房型変異遺伝子座の候補遺伝子がいくつか選抜された。一方、1 組の花房型変異系統を用いて、PacBio SequelIII でのシーケンスを行い、HiFi リードを取得した。今後、原品種と突然変異系統のゲノム配列比較を行い、上述の解析結果と照らし合わせるにより、花房型制御遺伝子座が特定できると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 上町達也・小財将哉・前田彩子・小林良乃
2. 発表標題 RNA-seq解析によるアジサイの装飾花と非装飾花での発現遺伝子の比較
3. 学会等名 園芸学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 上町達也・前田彩子・小林良乃・川村優理子・竹内俊輝
2. 発表標題 アジサイの装飾花形成時におけるSEPALLATA相同遺伝子の発現解析
3. 学会等名 園芸学会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------