

研究種目：基盤研究 (B)

研究期間：2007～2010

課題番号：19380016

研究課題名 (和文) 形質転換技術を用いたラン科植物特有の花器官形成機構の解明

研究課題名 (英文) Elucidation of the mechanism of floral development in orchid by transgenic approach.

研究代表者

菅野 明 (KANNO AKIRA)

東北大学・大学院生命科学研究科・准教授

研究者番号：10260449

研究代表者の専門分野：植物分子育種学

科研費の分科・細目：農学，園芸学・造園学

キーワード：ラン科植物，遺伝子解析，形質転換，変異体

1. 研究計画の概要

(1) ラン科植物における花器官形成に関わる遺伝子単離と発現解析：3種のラン科植物（コチョウラン，サギソウ，デンドロビウム）から ABCDE モデルに関わる MADS-box 遺伝子群と花の左右相称性に関わる *cycloidea* 遺伝子について単離・発現解析を行う。またディファレンシャルスクリーニング法などにより，ラン科植物特有の器官（唇弁・ずい柱・花粉塊）形成に関わる遺伝子の単離を試みる。

(2) ラン科植物の花器官変異体を用いた遺伝子解析：野生型，変異体のラン科植物を用いて花器官形成関連遺伝子群の発現を比較解析を行い，変異の原因遺伝子の特定を試みる。

(3) 形質転換技術を用いた花器官形成関連遺伝子群の機能解析：単離された花器官形成関連遺伝子群を発現ベクターにクローニングし，シロイヌナズナとタバコ，コチョウランとデンドロビウムに形質転換する。

2. 研究の進捗状況

デンドロビウム属セッコクからクラス B 遺伝子とクラス C 遺伝子を単離し，それぞれ DMAP3A, DMAP3B, DMPI, DMAG1 と名付けた。

リアルタイム PCR の結果，クラス B の DMAP3A と DMPI の第 1 ウォール（外花被）における発現が検出されたことから，これら 2 遺伝子の転写産物がヘテロダイマーを形成することで，セッコクにおける花弁様外花被を形成していることが考えられた。一方，DMAP3B は花弁と唇弁で顕著に高発現していたことか

ら，本遺伝子がこれらの器官形成に関与していることが示唆された。DMAG1 はずい柱で高発現していたことから，本遺伝子の発現がランのずい柱形成に必要であると示唆された。

また別種のセッコクから 2 つのクラス B 遺伝子 (DMADS4, DMPI) を単離した。RT-PCR の結果，前者は内花被，唇弁，ずい柱で発現し，後者は外花被，内花被，唇弁，ずい柱の全てで発現していた。また両遺伝子共，子房発達時に発現していた。酵母ツーハイブリッド解析により，これら 2 つの遺伝子はヘテロダイマーを形成することがわかった。

サギソウから単離した *DEF*-like 遺伝子の発現を，野生型とがく片が花弁化した変異体とで比較解析した結果，この遺伝子ががく片の花弁化に関与していることが示唆された。さらにサギソウのがく片が花弁化した変異体を用いた遺伝解析では，変異形質が優性に遺伝することを明らかにした。またコチョウランから単離した花器官形成遺伝子に関しては発現ベクターを構築し，コチョウランに形質転換し，形質転換個体を得ることに成功した。

3. 現在までの達成度

①当初の計画以上に進展している。

(理由) 予想以上に多くの遺伝子が単離でき，発現解析も進んでいることから，進展状況は非常に良いと判断した。

4. 今後の研究の推進方策

ラン科植物の花器官形成の分子機構解明に向けて研究の進展を早めるには、早期に開花し、遺伝解析も容易で、しかもゲノムサイズが小さいラン科のモデル植物を用いた研究が不可欠であるとの認識に至った。さまざまなラン科植物を探索した結果、シグモルキスがモデル植物としての条件に合致していることから、シグモルキスを中心とした研究に移行すべきであると判断し、新規研究課題（課題番号 22380018）へと移行した。

5. 代表的な研究成果

（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）

①Kim, S. Y., M. Endo and A. Kanno
Production of intraspecific hybrids between wild-type and petaloid-sepal cultivars in *Habenaria radiata*.
Scientia Horticulturae 124:415-418 (2010)
査読有り。

②Sirisawat, S. et al.
DMMADS4, a *DEF*-like gene from *Dendrobium* is required for floral organ identity and flower longevity of orchid.
Acta Horticulturae 936: 259-364 (2009)
査読有り。

〔学会発表〕（計 6 件）

①Sirisawat, S. et al.
DMMADS4, a *DEF*-Like Gene from *Dendrobium* is Required for Floral Organ Identity and Flower Longevity of Orchid.
23rd EUCARPIA Symposium. 2009年9月3日,
ライデン（オランダ）。

②S. Sirisawat, N. Fukuda, H. Ezura and T. Handa
Expression of class B and C MADS-box genes in *Dendrobium moniliforme* and its floral organ mutant cultivars. 4th
International Symposium on Diversity and Conservation of Asian Orchids.
2008年12月13日, 国立科学博物館筑波実験植物園（筑波）。

③ A. Kanno, M. Endo and S. Y. Kim
Production and characterization of intraspecific hybrids between wild-type and petaloid-sepal cultivar in *Habenaria radiata*.
4th International Symposium on Diversity and Conservation of Asian

Orchids. 2008年12月13日, 国立科学博物館筑波実験植物園（筑波）。

④ 萱野明, 金昭英, 遠藤都子
サギソウの獅子咲き品種‘飛翔’と野生株の雑種作出と形質調査. 園芸学会平成20年度秋季大会, 2008年9月27-28日. 三重大学（三重）。

⑤Supatida Sirisawat, 福田直也, 半田 高
Expression profiles of class B MADS-box genes in *Dendrobium moniliforme* and its petaloid-sepal mutants. 園芸学会平成20年度春季大会, 2008年3月28日, 東京農業大学農学部（神奈川）。

⑥Supatida Sirisawat, 福田直也, 半田 高
Expression of class B and C MADS-box genes in *Dendrobium moniliforme* and its floral organ mutant cultivars. 名古屋国際蘭会議2008, 2008年3月13日, ナゴヤドーム（名古屋）。

〔図書〕（計 1 件）

①A. Kanno and S. Y. Kim
Morphological differentiation of sepal and petal in *Habenaria radiata* (Orchidaceae). In: Plant Breeding Nova Science Publishers, Inc. pp.313-323 (2009)。

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕