

## 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 14 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2011

課題番号：22580022

研究課題名（和文） スカシユリのアントシアニン生合成を制御している MYB 遺伝子の機能解析

研究課題名（英文） Characterization of MYB genes regulating anthocyanin biosynthesis in Asiatic hybrid lily

研究代表者

山岸 真澄 (YAMAGISHI MASUMI)

北海道大学・大学院農学研究院・准教授

研究者番号：40210348

研究成果の概要（和文）： スカシユリ花卉におけるアントシアニン色素の蓄積は優性の一遺伝子に支配されている。生合成遺伝子の転写を制御している転写調節因子の発現を解析したところ、色素が蓄積している花卉でのみ *LhMYB12* 転写調節因子の発現が認められることより、*LhMYB12* 遺伝子が品種間差異を決めていると予測された。しかし *LhMYB12* の優性対立遺伝子と色素の蓄積が共分離することはまだ示されていない。‘モントルー’と‘ルノアール’の交雑に由来する F1 集団を用いて遺伝分析を行ったところ色素発現と MYB12 遺伝子は共分離したことより、MYB12 遺伝子が品種間差異の原因になっていることを確かめた。*LhMYB12* 遺伝子を増幅するために用いた PCR primer はピンク花の DNA マーカー選抜に応用できる。一方で、スカシユリ花卉のピンク色には、light pink, pink red, chocolate brown などの違いが認められる。この色調の違いはアントシアニンの組成の違いではなく、主にアントシアニンの蓄積量の差によること、色素の蓄積量と *LhMYB12* の発現量には正の相関が認められることを明らかにした。色素の蓄積が MYB12 の発現量を介して調節されていることは興味深い。さらに本研究では、顕微鏡を用いてアントシアニンスポットの切片を経時的に観察することによって、スポットの発生機構を形態学的に解明した。スポットの形成に必要な細胞分裂がいつどこで起こるのか明らかにした。

研究成果の概要（英文）： A single dominant locus determines anthocyanin biosynthesis in the tepals of Asiatic hybrid lilies (*Lilium* spp.); however the gene that determines this trait has not been previously reported. Furthermore, anthocyanin colour hue in tepals varies among cultivars, but the mechanisms underlying this variation are not known. Here, we show that *LhMYB12*, which is homologous to petunia *An2*, determines anthocyanin pigmentation in tepals and that the level of *LhMYB12* transcription affects the quantity of anthocyanin pigments, producing colour hue variation in tepals. The pink-tepal cultivars ‘Montreux’ and ‘Renoir’ were heterozygous for the *LhMYB12* gene. Their F<sub>1</sub> population segregated 3:1 for the presence or absence of anthocyanin in tepals, and *LhMYB12* cosegregated perfectly with the presence of anthocyanin, indicating that *LhMYB12* determines anthocyanin biosynthesis in tepals. Among 7 cultivars, a single anthocyanin cyanidin 3-O-β-rutinoside was detected in tepals displaying light pink, pink-red, dark red, or chocolate brown hues. However, concentrations differed according to the following order of colour hue: light pink < pink-red < dark red < chocolate brown, suggesting that colour hue variation in tepals is strongly related to anthocyanin quantities. The accumulation of *LhMYB12* transcripts in tepals varied among 7 cultivars in the same order, and transcription levels were positively correlated with pigment quantities. This suggests that the levels of transcription of *LhMYB12* vary among the different cultivars and subsequently affect the quantities of pigment in tepals. These results indicate that *LhMYB12* determines anthocyanin pigmentation and generates the variation in anthocyanin-colour hue in lily tepals.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,900,000	870,000	3,770,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学・園芸学・造園学

キーワード：スカシユリ 花色 遺伝子発現制御 品種間差異 形質発現

### 1. 研究開始当初の背景

(1) スカシユリ花卉におけるアントシアニン色素の蓄積は優性の一遺伝子に支配されている。生合成遺伝子の転写を制御している転写調節因子の発現を解析したところ、色素が蓄積している花卉でのみ *LhMYB12* 転写調節因子の発現が認められることより、*LhMYB12* 遺伝子が品種間差異を決めていると予測された。しかし *LhMYB12* の優性対立遺伝子と色素の蓄積が共分離することはまだ示されていない。

(2) スカシユリ花卉のピンク色には様々な色調が認められるが、その制御については不明である。

(3) 花卉に認められるアントシアニンスポットはスカシユリに特異的な現象である。

### 2. 研究の目的

(1) *LhMYB12* の優性対立遺伝子と色素の蓄積が共分離することを F1 集団を用いて示す。

(2) スカシユリの様々な品種を用いて、アントシアニン色素の蓄積量と転写因子の *LhMYB12* の転写量との間で関連があることを示す。

(3) 顕微鏡を用いて花卉に現れるスポットを観察する。

### 3. 研究の方法

(1) ‘モントルー’と‘ルノアール’の交雑に由来する F1 集団を用いて、*LhMYB12* の転写量と色素の蓄積量を花卉で調査した。

(2) 様々なスカシユリ品種を用いて、同様の調査を行い、*LhMYB12* の転写量と色素の蓄積量との相関を調査した。



図 スカシユリ品種 Montreux



図 スカシユリ品種 Renoir

(3) 顕微鏡を用いて花卉に現れるスポットを観察した。

#### 4. 研究成果

(1) ‘モントルー’と‘ルノアール’の交雑に由来する F1 集団を用いて遺伝分析を行ったところ色素発現と MYB12 遺伝子は共分離したことより、MYB12 遺伝子が品種間差異の原因になっていることを確かめた。LhMYB12 遺伝子を増幅するために用いた PCR primer はピンク花の DNA マーカー選抜に応用できる。

(2) スカシユリ花卉のピンク色には、light pink, pink red, chocolate brown などの違いが認められる。この色調の違いはアントシアニンの組成の違いではなく、主にアントシアニンの蓄積量の差によること、色素の蓄積量と LhMYB12 の発現量には正の相関が認められることを明らかにした。色素の蓄積が MYB12 の発現量を介して調節されていることは興味深い。また同時に、スカシユリ花卉には数種のフェニルプロパのイド化合物が高濃度に蓄積していることが明らかになった。

(3) 光学顕微鏡と走査型電子顕微鏡を用いてアントシアニンスポットの切片を経時的に観察することによって、スポットの発生機構を形態学的に解明した。スポットの形成に必要な細胞分裂がいつどこで起こるのか明らかにした。ユリのアントシアニンスポットはユリにしか認められないユニークな現象であることを明らかにした。

#### 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 6 件)

- ① Yun-Song Lai, Yoshihiro Shimoyamada, Masayoshi Nakayama and Masumi Yamagishi. Pigment accumulation and transcription of *LhMYB12* and anthocyanin biosynthesis genes during flower development in the Asiatic hybrid lily (*Lilium* spp.). *Plant Science* (in press) 査読有り
- ② Masumi Yamagishi, Yusuke Yoshida and Masayoshi Nakayama. The transcription factor *LhMYB12* determines anthocyanin pigmentation in the tepals of Asiatic hybrid lilies (*Lilium* spp.) and regulates pigment quantity. *Molecular Breeding* (in press). DOI: 10.1007/s11032-011-9675-6 査読有り
- ③ Masumi Yamagishi (2011) Oriental hybrid lily ‘Sorbonne’ homologue of *LhMYB12* regulates anthocyanin biosyntheses in flower tepals and tepal spots. *Molecular Breeding* 28: 381–389.

DOI: 10.1007/s11032-010-9490-5 査読有り

- ④ Yun-Song Lai, Masumi Yamagishi and Takashi Suzuki (2011) Elevated temperature inhibits anthocyanin biosynthesis in the tepals of an Oriental hybrid lily via the suppression of *LhMYB12* transcription. *Scientia Horticulturae* 132: 59-65. DOI: 10.1016/j.scienta.2011.09.030 査読有り
- ⑤ Masumi Yamagishi, Yoshihiro Shimoyamada, Takashi Nakatsuka and Kiyoshi Masuda (2010) Two *R2R3-MYB* genes, homologues of petunia *AN2*, regulate anthocyanin biosyntheses in flower tepals, tepal spots and leaves of Asiatic hybrid lily. *Plant & Cell Physiology* 51: 463-474. doi: 10.1093/pcp/pcq011 査読有り
- ⑥ Masumi Yamagishi, Sanae Kishimoto and Masayoshi Nakayama (2010) Carotenoid composition and changes in expression of carotenoid biosynthetic genes in tepals of Asiatic hybrid lily. *Plant Breeding* 129: 100-107. DOI 10.1111/j.1439-0523.2009.01656.x 査読有り

[学会発表] (計 6 件)

- ① Pigment accumulation and transcription of *LhMYB12* and anthocyanin biosynthesis genes during flower development of Asiatic hybrid lily (*Lilium* spp.) Yun-Song Lai, Yoshihiro Shimoyamada, Masayoshi Nakayama and Masumi Yamagishi. (園芸学研究11 (別冊1) : 199) 2012.3.28-29
- ② ユリ (*Lilium*) 花被片に認められる 2 種類の斑点について。山岸真澄・赤木航一。(園芸学研究10 (別冊2) : 282) 2011.9.24-25
- ③ Transcriptions of MYB Gene and Anthocyanin Biosynthesis Genes In Oriental Hybrid Lily ‘Marrero’ Are Suppressed by High Temperature. Yun-Song Lai and Masumi Yamagishi. ASHS Annual Conference, 2011.9.25 - 28 Hilton Waikoloa Village, Waikoloa, Hawaii
- ④ スカシユリ品種の‘モントルー’と‘ルノアール’の交雑に由来する F1 集団におけるアントシアニン色素蓄積と *LhMYB12* 遺伝子の分離。山岸真澄・吉田祐輔・中山真義。(園芸学研究 10 (別冊 1) : 225) 2011.3.20-21
- ⑤ オリエンタルハイブリッドユリの *LhMYB12* ホモログは花被片におけるアントシアニン生合成を制御している。山岸真澄。日本育種学会第 118 回講演会 (育種学研究 12 (別冊 2) : 174) 2010.9.24-25
- ⑥ オリエンタルハイブリッドユリ花被片においてアントシアニン生合成を制御している *R2R3-MYB* 遺伝子。山岸真澄。園芸学会平成 22 年度秋期大会研究発表 (園芸学研究 9 (別冊 2) : 265) 2010.9.19-20

[図書] (計 0 件)

[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]

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

山岸 真澄 (YAMAGISHI MASUMI)

北海道大学・大学院農学研究院・准教授

研究者番号 : 40210348

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号 :

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号 :