

スカシユリ花被片の突起斑点における着色を制御している R2R3-MYB/bHLH 転写因子の発現解析

生物資源科学専攻 作物生産生物学講座 植物機能開発学 坂間博子

1. はじめに

スカシユリ (*Lilium spp.*) は赤, ピンク, 白, 黄色といった豊富な花色に加えて斑点やバイカラーなどもあり, 模様のバリエーションが豊富である。中でも突起斑点は着色した乳頭状突起によって形成されるユリ属特有の模様である。突起斑点到蓄積する色素はアントシアニンであり, その生合成は転写因子 MYB と bHLH によって制御されている。また, アントシアニンは通常表皮細胞にのみ蓄積する。これは bHLH が表皮細胞で特異的に発現しているからである。しかし, 突起斑点的着色は柔細胞にまで及んでいる (Euphytica 194:325-334, 2013)。本研究では, 突起斑点的着色が柔細胞にまで及ぶ原因は bHLH が柔細胞でも発現しているからであると考え, スカシユリから単離されている *LhbHLH2* の発現部位を特定した。また, 突起斑点上で特異的に機能する MYB を特定するために新規 MYB を単離し, 発現解析を行った。

2. 方法

遺伝子の発現部位を特定するために *in situ* ハイブリダイゼーションを行った。スカシユリ品種 ‘モントレー’ 開花ステージ2および ‘イエロージャイアント’ 開花ステージ3の内花被片を約1 cm 角に切り取り, FAA を用いて固定した後, パラフィンに包埋した。厚さ 80 μm の切片としてスライドガラスに貼り付け, RNA プローブをハイブリダイズした。新規 MYB の単離には ‘オレンジスポット’ から作製した cDNA を用いた。縮重プライマーを用いて目的の DNA 断片を増幅し, クローニングとシークエンス解析を行った。発現解析には ‘イエロージャイアント’, ‘モントレー’, ‘ロリポップ’ を使用した。‘イエロージャイアント’ はピンセットを用いて花被片を表皮細胞と柔細胞に分解した。抽出した RNA から作製した cDNA を用いて定量 PCR を行った。

3. 結果と考察

定量 PCR の結果, *LhbHLH2* は突起内部の柔細胞でも発現していることが示唆された。*in situ* ハイブリダイゼーションによって詳細な発現部位の特定を行ったところ, *LhbHLH2* は表皮細胞と突起内部の柔細胞で発現していることが分かった。突起斑点的着色が表皮細胞に限定されていないのは, *LhbHLH2* が突起内部の柔細胞でも発現しているからであると考えた。‘オレンジスポット’ から新規の MYB である *LhMYBSP* を単離した。*LhMYBSP* はアントシアニン生合成に関与する AN2 サブグループに属し, ユリの *LhMYB12* や *LhMYB6* とホモロジーが高かった。発現解析の結果, 突起斑点的着色が始まる開花ステージ2で *LhMYBSP* はほとんど発現していなかったが, 突起部分に局在していることが分かった。以上の結果から, *LhMYBSP* は突起斑点的着色を制御している可能性があると考えた。

4. まとめ

本研究より, 突起斑点上が突起内部の柔細胞でも着色しているのは *LhbHLH2* が突起内部の柔細胞でも発現しているからであることが分かった。また, 突起斑点的着色に影響を与えている可能性がある *LhMYBSP* を単離することができた。今後の機能解析によって *LhMYBSP* の機能が明らかになることを期待する。