

平成 28 年度 医療研究開発推進事業費補助金
成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) ナショナルバイオリソースプロジェクト
(英語) National Bioresource Project

補助事業課題名： (日本語) 広義キク属リソースの収集・保存・提供
(英語) Chrysanthemum Bioresources

補助事業担当者 (日本語) 広島大学理学研究科附属植物遺伝子保管実験施設・教授 草場 信
所属 役職 氏名： (英語) Makoto Kusaba,
Laboratory of Plant Chromosome and Gene Stock,
Graduate School of Science, Hiroshima University

実施期間： 平成 28 年 04 月 01 日 ～ 平成 29 年 03 月 31 日

分担研究 (日本語)
分担課題名： (英語)

補助事業分担者 (日本語)
所属 役職 氏名： (英語)

II. 成果の概要 (総括成果報告) キク科は被子植物の約 1/10 にあたる 23000 種以上が属す最も繁栄する植物群のひとつであり、植物の多様性研究において非常に重要な位置を占める。その中においてキク属は主に東アジアで分化した植物群であり、我が国においては切花生産の 1/3 を占める最も重要な花き品目である栽培ギクが含まれる。また、キク属とその近縁属を含む広義キク属には抗マラリア剤として知られるアルテミシニンに代表されるように有用二次代謝物を多く蓄積する種が多く、創薬を視野に入れた研究対象としても魅力的である。NBRP 広義キク属はキク属およびその近縁属を中心としたリソースであり、キク科ではまだ確立していないモデル植物種・モデル系統をキク属において確立し、そのモデル系統を核としたリソース整備を進めることでキク科植物研究の発展に寄与しようとしている。キク属の代表的種である栽培ギクは、その高次倍数性と自家不和合性から遺伝学的解析が難しいが、第 3 期 NBRP では二倍体野生種キクタニギクの自家和合性突然変異体の純系化を通してモデル系統を開発した。本系統は、突然変異体の単離を含む遺伝学的な解析に大変有用と考えられる。また、純系化されていることから遺伝子の機能解析も容易であり、これを用いて全ゲノム塩基配列決定を進めている。ま

た形質転換もできるなどのモデル系統として適した性質を持つことも分かっている。

第3期は四国・中国・東北・関東を中心に日本産野生ギクの収集を行った。特に第3期にモデル植物系統として開発したキクタニギクについては多くの系統を収集することに努めた。また野生ギクのナチュラルバリエーション解析などの分子遺伝学的研究に用いるためにリソースについても収集を行った。また、10万クローンからなるキクタニギク自殖系統のBACライブラリを収集した。広義キク属植物リソースの保存に関しては、保存方法の検討、重要系統へのリソースの集中を行うことで系統数の整理を行い、平成28年度3月において保存数は約5000系統とした。特に重要な系統は富山県中央植物園にてバックアップを行った。提供に関しては、平成24年度：90系統（国内）平成25年度：188系統（国内）、平成26年度：146系統（国内134系統、海外12系統）、平成27年度：396系統（国内346系統、海外50系統）、平成28年度：276系統（国内270系統、海外6系統）と提供数は目標値を越えて増える傾向にあった。海外にもコンスタントに提供することが出来た。また、小集会の開催・各種学会での発表・展示など、広報活動にも努めた。

以上、第3期NBRP広義キク属の最も重要な目標は広義キク属のモデルとなる標準系統を確立し、分子遺伝学的解析の基盤となる基本リソースを整備することであったが、その目標は達成することが出来た。また、収集・保存・提供のいずれも第3期の目標を達成することが出来た。

Asteraceae is the largest family in angiosperm, containing ca. 23,000 species about one-tenth of angiosperm, suggesting that Asteraceae is a very important group of plants in the study of biodiversity. However, there is no established model species/strain in Asteracea. The genus *Chrysanthemum* is a member of Asteracea, which is mainly distributed in East Asia. *Chrysanthemum* and relative genera include economically important species, such as *Chrysanthemum morifolium* Ramat., one of the most important ornamental flowers, *Tanacetum cinerariifolium* (Trevir.) Sch.Bip., which produces pyrethroids used as insecticides worldwide, and *Artemisia annua* L., which produces artemisinin used as anti-malaria drugs. NBRP Chrysanthemum is a project for bioresources of the genus *Chrysanthemum* and related genera and aiming to contribute to development of life science in Asteraceae. The genus *Chrysanthemum* has self-incompatibility and a number of them are autopolyploid species ranging from diploid to decaploid, which make their genetic analysis complicated. To overcome this difficulty, we propose a genetic analysis system using a self-compatible mutant of diploid wild species. We isolated a self-compatible mutant of the diploid *Chrysanthemum* species, *C. seticuspe*, and repeatedly selfed to obtain a pure line. Thus, we successfully developed a model strain for the molecular genetic study in *Chrysanthemum* in the third period of NBRP. For example, we can obtain induced mutants using this self-compatible model strain. Furthermore, this pure strain is suitable for determination of whole genome sequence and other global analyses, and the agrobacterium-mediated transformation method is applicable to this line.

In the third period of NBRP, we mainly collected wild chrysanthemum strains, particularly *C. seticuspe*, in Shikoku, Chugoku, Tohoku, and Kanto regions. In addition, we collected *Chrysanthemum* resources for molecular genetic analysis of natural variation. In addition, we improved conservation strategy of *Chrysanthemum* strains focusing on important strains. In March 2017, the number of *Chrysanthemum* collections was about 5,000. Most important strains were backed up by Botanic Garden of Toyama. The number of *Chrysanthemum* strains provided were: 90 strains in 2012; 188 strains in 2013; 146 strains in 2014; 396 strains in 2015; 276 strains in 2016. They were beyond the numerical target. In addition, we attended several academic conferences and tried to gain publicity of NBRP Chrysanthemum.

The main object of NBRP Chrysanthemum of the third period was the establishment of model strain in the genus *Chrysanthemum*. We successfully achieved this most important goal. Furthermore, we also achieved the numerical objectives for collection, conservation, and provision in NBRP Chrysanthemum of the third period.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0 件、国際誌 7 件）

1. ABD EL-TWAB MH, KONDO K. Physical mapping of 5S and 45S rDNA in *Chrysanthemum* and related genera of the Anthemideae by FISH, and species relationships. Indian Acad. Sci. 2012, 91, 245-24
2. ABD EL-TWAB MH, KONDO K. Genome Mutation Revealed by Artificial Hybridization between *Chrysanthemum yoshinaganthum* and *Chrysanthemum vestitum* Assessed by FISH and GISH. J. Bot. 2012, 1-8
3. TATARENKO E, SMIRNOV SV, KONDO K. Chromosome relationships among the members of *Chrysanthemum fruticulosum* complex II. Hexaploid strain of *Artemisia obtusiloba* in Altai Mts., Russia. Chrom. Bot. 2013, 8,45-46
4. TANIGUCHI K, KUSABA M, NAKATA M, KADOTA Y. Unique Forms of Leaf and Capitulum in *Chrysanthemum seticuspe* (Maxim.) Hand.-Mazz. f. *seticuspe* Is Contained within Morphological Diversity of *C. seticuspe* f. *boreale* (Makino) H. Ohashi & Yonek. . Mem. Natl. Mus. Nat. Sci., Tokyo. 2014, 49, 11-15
5. NAKANO M, TANIGUCHI K, KUSABA M. Bio-resources for genetic studies in Anthemidae. Acta Horticulturae, in press.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. A self-fertile diploid Chrysanthemum: a model plant line in Anthemideae released from National Bio-Resource Project Chrysanthemum, ポスター, Michiharu Nakano, Kenji Taniguchi, Makoto Kusaba, ISHS II International Symposium on Pyrethrum, 2015/8/6-2015/8/9, 国外.

2. Bio-resources for analysis of interspecific natural variation in Chrysanthemum, ポスター, Michiharu Nakano, Kenji Taniguchi, Toshiaki Kozuka, Makoto Kusaba, The 8th ANRRC International meeting, 2016/9/20-2016/9/22, 国外.
3. ナショナル・バイオリソース・プロジェクト・広義キク属, ポスター, 増田優, 谷口研至, 草場信, 第 35 回日本分子生物学会年会, 2012/12/11-2012/12/14, 国内.
4. 本原宏一郎, 山根虹子, 谷口研至, 韓 晶, 中田政司, 世羅徹哉, 井上尚子, 陳瑞陽, 納海燕, スレイマン マムテインミン, 陳力, 梁魯, 李先源, 鄧紅紅, 草場信, 雑種形成による同倍数性ゲノム進化過程の解析—キク属植物の NCED3a と NCED3b 遺伝子の挙動の違い—日本育種学会第 124 回講演会, 2013/10/12-2013/10/13, 国内.
5. ナショナル・バイオリソース・プロジェクト・広義キク属, ポスター, 中野道治, 谷口研至, 草場信, 第 36 回日本分子生物学会年会, 2013/12/3-2013/12/5, 国内.
6. 自家和合性キクタニギク: キク属分子遺伝学研究のためのプラットフォーム, ポスター, 中野道治, 谷口研至, 増田優, 草場信, 園芸学会平成 26 年度春季大会, 2014/3/29-2014/3/30, 国内.
7. ナショナル・バイオリソース・プロジェクト・広義キク属, ポスター, 中野道治, 谷口研至, 草場信, 第 37 回日本分子生物学会年会, 2014/11/25-2014/11/27, 国内.
8. キクタニギク自家和合系統を用いたキク属モデル植物の開発, ポスター, 小塚俊明, 中野道治, 坂本智昭, 木村成介, 有賀悠貴, 谷口研至, 草場信, 日本植物学会第 80 回大会, 2016/9/16-2016/9/19, 国内.
9. キク属におけるモデル系統の開発とマップベースクローニングの試み, ポスター, 有賀悠貴, 中野道治, 小塚俊明, 増田優, 平川英樹, 住友克彦, 八木雅史, 中野善公, 久松完, 磯部祥子, 谷口研至, 草場信, 育種学会第 131 回講演会, 2017/3/29-2017/3/30, 国内.
10. キクタニギクのゲノム配列解読, ポスター, 平川英樹, 住友克彦, 久松完, 中野善公, 八木雅史, 中野道治, 白澤健太, 草場信, 磯部祥子, 園芸学会平成 29 年度春季大会, 2017/3/19-2017/3/20, 国内.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
なし

(4) 特許出願