

平成21年 4月 1日現在

研究種目：若手研究 (A)

研究期間：2006～2008

課題番号：18687001

研究課題名 (和文) 倍数化を導く減数分裂：非還元性配偶子形成の遺伝機構の解明

研究課題名 (英文) Genetic mechanisms for 2n gamete formation

研究代表者

松岡 由浩 (MATSUOKA YOSHIHIRO)

公立大学法人福井県立大学・生物資源学部・講師

研究者番号：80264688

研究成果の概要：

本研究では、種間交雑-倍数化による新しい種の形成プロセスにおいて重要な役割を果たす、非還元配偶子形成の遺伝的メカニズムの解明を目指し、種間雑種の自殖種子稔性に関する遺伝分析を行なった。二倍体コムギと四倍体コムギの交雑に由来する3倍体植物を材料として、マイクロサテライト・マーカーを用いて連鎖解析を行なった結果、二倍体コムギゲノム上に、種間雑種の自殖種子稔性の高低に影響する遺伝子座が存在することが示された。

交付額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-----------|-----------|-----------|
| 2006年度 | 3,800,000 | 1,140,000 | 4,940,000 |
| 2007年度 | 1,700,000 | 510,000 | 2,210,000 |
| 2008年度 | 1,700,000 | 510,000 | 2,210,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 7,200,000 | 2,160,000 | 9,360,000 |

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・遺伝・ゲノム動態

キーワード：2n 配偶子・倍数性進化・種分化・種間雑種・コムギ

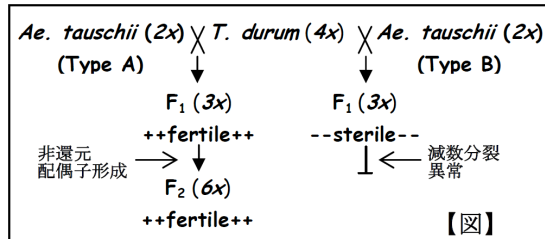
1. 研究開始当初の背景

種間交雑とそれに続く倍数化による新しい種の形成は、植物界における進化の主要な原動力である。しかし、このプロセスを支配するメカニズムは、未だ不明な点が多い。

研究代表者は、生物進化の遺伝機構に強い興味をもつ。現在は、特に、種形成を導く機構の1つとして、種間交雑に着目している。平成14-16年度に科学研究費[若手研究(B)]

を得て、雑種ゲノムの形成と安定化に関与する遺伝因子を同定する研究に着手した。この過程で、マカロニコムギ (*Triticum durum*) (4倍体、♀親、1系統に固定) とタルホコムギ (*Aegilops tauschii*) (2倍体、♂親、52系統) を交配し、F₁雑種 (3倍体) を作出したところ、♂親のタルホコムギに、高い自殖種子稔性 (>50%) をもつF₁雑種を生じる系統 (タイプA) と、不稔F₁雑種を生じる系

統 (タイプ B) を見出した。さらに、細胞遺伝学的解析から、タイプ A タルホコムギ由来の F_1 雑種は、特異な減数分裂によって、非還元配偶子を高頻度に形成することを明らかとし、これが、高い自殖種子稔性の直接の原因であることを示した (下図)。



近年、倍数化とは、単なる遺伝子・ゲノムの付加的加算ではなく、特定 DNA 配列の除去、遺伝子不活化、染色体構造の変化など様々な遺伝的变化を伴うダイナミックなプロセスであるとの認識が広まり、安定な倍数性ゲノムの形成を導く遺伝メカニズムの研究が活発化した。国内においても、特定領域研究「種形成の分子機構」(平成 14 年度発足)に植物の倍数化を対象とする計画研究が 2 つ入ったことから明らかなように、植物の倍数化のメカニズムは非常に関心の高いテーマである。しかし、現在のところ、倍数種成立の端緒を開く、種間雑種における非還元配偶子形成の遺伝機構に焦点を当てた研究は、研究代表者の知る限り、国内外を通じてほとんど無い。

2. 研究の目的

上記の研究背景・国内外の状況をふまえ、本研究では、マカロニコムギとの F_1 雑種において、非還元配偶子形成に関与するタルホコムギ遺伝子の連鎖分析を行なう。

種間交雑による種形成は、極めて重要な進化的事象であるにも関わらず、その遺伝的メカニズムの解明は進んでいない。これは、従来の分子遺伝学研究的モデル生物が、種間雑種を研究する上で、必ずしも有用でなかったことに一因がある。一方、ゲノム科学の進展により、ゲノムサイズが大きく、遺伝子の同定・単離が難しかった生物でも、EST データベースが整備されるなど、分子レベルでの研究を推進する環境が整った。本研究は、この時機をとらえ、倍数性種分化の研究に好適なコムギを材料に用い、従来のモデル生物では研究が難しかった重要な生命現象の遺伝機構の解明に取り組む点に、最大の特色と先導性がある。

また、植物の減数分裂の遺伝機構についても、未だ不明の点が多い。本研究により、非還元配偶子形成に関与する遺伝機構につい

ての理解が深まれば、植物の減数分裂の遺伝機構に関する新しい知見をもたらすと期待される。

本研究で対象とするマカロニコムギ (パスタの材料) とタルホコムギ (野生種) の種間交雑は、8,000 年前ごろに自然界で実際に起き、パンコムギ (パン、うどんの材料) を生み出したことが知られている。本研究は、人類の食欲に幸福をもたらし、文明の発展に多大な貢献を成した、この偉大な生命現象の遺伝機構を解明する試みである点でも意義深いと考える。

3. 研究の方法

(1) 親系統の選抜

タイプ A とタイプ B のタルホコムギ系統から、連鎖分析に供する分離集団の親となる系統を、交配のしやすさ、雑種の生育力を考慮して選抜する。

(2) 分離集団の作出

タイプ A とタイプ B の交雑 F_1 を花粉親として、マカロニコムギと交配し、[マカロニコムギ \times タルホコムギ F_1] F_1 個体からなる分離集団を作出する。分離集団の大きさは 300 個体程度とする。

(3) マイクロサテライト・マーカーの選抜
タルホコムギで利用できるマイクロサテライト・マーカーから、連鎖分析に利用可能なものを 100 個程度選抜する。

(4) 分離集団育成条件の予備調査

分離集団を育成する最適な栽培条件を検討するため、10 個体程度からなる小規模分離集団を、加温温室と非加温温室で栽培し、自殖種子稔性を調査する。

(5) 非還元配偶子形成の QTL 解析

分離集団 (300 個体程度) の自殖種子稔性を調査し、非還元配偶子形成頻度の分離データを得る。また、分離集団の各個体から DNA を抽出し、選抜したマイクロサテライト・マーカーを用いてゲノタイピングする。次いで、QTL 解析法により、自殖種子稔性の高低に影響する遺伝子座を連鎖地図上にマップする。

4. 研究成果

(1) 親系統の選抜

タイプ A とタイプ B のタルホコムギ系統を交配し、 F_1 雑種の生育力を確認したところ、いくつかの組み合わせでは、雑種不稔が生じることが分かった。このような組み合わせを排除し、最終的にタイプ A を 1 系統とタイプ B を 1 系統、親系統として選抜した。更に、マ

カロニココムギとタルホコムギの交配に由来する3倍体F₁雑種の自殖種子稔性のナチュラル・バリエーションを系統進化的解析し、論文を発表した(論文#5)。

(2) マイクロサテライト・マーカー選抜
タルホコムギで利用できるマイクロサテライト・マーカー312個を調査し、タイプAとタイプBの間で明瞭なPCR断片長多型を示す105個のマーカーを選抜した。座乗染色体の内訳は以下の通り。

| | | | |
|-------|----|-------|----|
| 1D染色体 | 13 | 2D染色体 | 17 |
| 3D染色体 | 18 | 4D染色体 | 10 |
| 5D染色体 | 26 | 6D染色体 | 10 |
| 7D染色体 | 11 | | |

(3) 小規模分離集団を用いた予備調査

環境が表現型に及ぼす影響を考慮して2つのテスト集団を設け、一方は加温温室(20℃に設定)、もう一方は非加温温室で育成した。集団サイズは加温温室集団が9個体、非加温温室集団が8個体であった。両集団とも、各個体の初めに穂に出穂した4穂に袋を掛け、自殖種子稔性を調査した。

自殖種子稔性について、加温温室集団と非加温温室集団の双方で分離がみられた。それぞれの集団の自殖種子稔性の範囲は、加温温室集団が11.3%~52.5%、非加温温室集団が8.8%~20.0%であった(下図)。集団間で自殖種子稔性の平均値と標準偏差に明瞭な違いがみられ、加温温室集団(平均29.2%、標準偏差13.6)では非加温温室集団(平均14.4%、標準偏差4.3)に比べて約3倍の変異の幅がみられた。平均値の差は、統計的に有意であった(*t*検定、*P* = 0.01)。

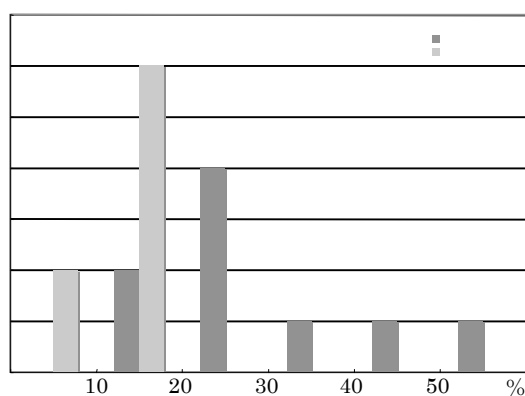


図 分離集団の自殖種子稔性(横軸)。濃い灰色は加温温室、薄い灰色は非加温温室。縦軸は個体数(1目盛り1個体)

上記の分離集団に、選抜した105のマイクロサテライト・マーカーを適用したところ、加温温室集団では、全体の49.2%の対立遺伝

子がタイプA(高稔性系統)由来、50.8%がタイプB(低稔性系統)由来であり、1:1の分離がみられた(カイ自乗検定、*P* = 0.63)。同様に、非加温温室集団でも、全体の52.9%の対立遺伝子がタイプA由来、47.1%がタイプB由来であり、1:1の分離がみられた(カイ自乗検定、*P* = 0.10)。ただし、マーカー別にみると、11のマーカーで、統計的に有意な分離比の歪みがみられた。

自殖種子稔性データとマイクロサテライト遺伝子型データをシングルQTLモデルを用いて区間マッピング解析に供した。自殖種子稔性データは、アングル変換して解析に用いた。その結果、加温・非加温温室集団ともに、LODスコアが2程度のピークがみられた。これらの遺伝子座は、それぞれ、全表現型分散の60%程度を説明する。LODスコアはいずれも5%水準で有意ではなかった(permutation test)。

加温温室集団と非加温温室集団において、自殖種子稔性の平均値に統計的に有意な違い(*t*検定、*P* = 0.01)が見られたことから、この形質の発現は、環境に大きく影響されることが示された。一方、両集団で自殖種子稔性の明瞭な分離がみられたことから、この形質の発現には、遺伝的要因が関係していることも明白であった。実際、予備的なQTL解析から、この形質に関与する遺伝子座がタルホコムギ・ゲノム上に存在することが示唆された。これらのことから、コムギ3倍体F₁雑種においては、比較的少数の遺伝子が積極的に作用することにより、非還元配偶子が形成される可能性が考えられる。

(4) QTL解析

予備調査の結果をふまえ、300個体からなる分離集団を加温温室に栽培し、自殖種子稔性を調査した。また、各個体からDNAを抽出し、選抜した105のマイクロサテライト・マーカーを用いて、現在までに、93個体の遺伝子型を調査した。現時点での区間マッピング解析(シングルQTLモデルを使用)の結果、タルホコムギ・ゲノム上に統計的に有意なQTLが検出された。

(5) その他

QTL解析に用いる分離集団の親となるタイプAとタイプBのタルホコムギ系統を選抜する過程で、タルホコムギの分布域をカバーする400系統を共通圃場で試験栽培した。この貴重な機会を活用し、タルホコムギの形態・開花形質のナチュラル・バリエーションを、体系的に調査した。そして、これらの形質の種内多様性の進化のプロセスを解析し、論文として発表した(論文#1-3)。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計5件)

1. [査読有] **Matsuoka Y**, Nishioka E, Kawahara T, Takumi S (2009) Genealogical analysis of subspecies divergence and spikelet-shape diversification in central Eurasian wild wheat *Aegilops tauschii* Coss. *Plant Syst Evol* 279: 233-244

2. [査読有] Takumi S, Naka Y, Morihiro H, **Matsuoka Y** (2009) Expression of morphological and flowering time variation through allopolyploidization: an empirical study with 27 wheat synthetics and their parental *Aegilops tauschii* accessions. *Plant Breed* (in press) (doi:10.1111/j.1439-0523.2009.01630.x)

3. [査読有] **Matsuoka Y**, Takumi S, Kawahara T (2008) Flowering time diversification and dispersal in central Eurasian wild wheat *Aegilops tauschii* Coss.: genealogical and ecological framework. *PLoS ONE* 3: e3138

4. [査読無] **松岡由浩** (2007) 栽培植物の分子系統学. *蛋白質核酸酵素* 52: 1937-1941

5. [査読有] **Matsuoka Y**, Takumi S, Kawahara T (2007) Natural variation for fertile triploid F_1 hybrid formation in allohexaploid wheat speciation. *Theor Appl Genet* 115: 509-518

[学会発表] (計9件)

1. **松岡由浩** 「"パンコムギの起原"」の再検討」第3回ムギ類研究会 (2008年12月6日、倉敷市)

2. **松岡由浩**、宅見薫雄、河原太八 「ユーラシア広域分布種タルホコムギの開花変異と系統地理」第10回日本進化学会大会 (2008年8月22日、東京)

3. **松岡由浩**、宅見薫雄、河原太八 「タルホコムギの開花変異について」日本遺伝学会第79回大会 (2007年9月19日、岡山市)

4. 那須田周平、芦田泰代、**松岡由浩**、遠藤隆 「合成コムギにおける一回分裂型減数分

裂の細胞遺伝学的解析」日本遺伝学会第78回大会ワークショップ (2006年9月25日、つくば市)

5. 宅見薫雄、**松岡由浩** 「コムギ倍数化の遺伝機構：合成コムギを用いた再現系」日本遺伝学会第78回大会ワークショップ (2006年9月25日、つくば市)

6. **松岡由浩**、那須田周平 「非還元配偶子形成によるゲノム障壁の克服：倍数性進化の再現系を用いた遺伝機構の解明」国立遺伝学研究所研究集会/特定領域研究「植物ゲノム障壁」ワークショップ (2006年9月25日、つくば市)

7. **松岡由浩** 「パンコムギの出現：種間交雑と配偶子置換形成」日本育種学会第110回講演会グループ研究集会 (2006年9月23日、松山市)

8. 宅見薫雄、藤原健祐、小林史典、村井耕二、**松岡由浩** 「*Vrn-1* 遺伝子座の構造多型からみたタルホコムギの種内分化」日本育種学会第110回講演会 (2006年9月23日、松山市)

9. 水野信之、**松岡由浩**、宅見薫雄 「AFLP及びSSR分析からみたタルホコムギの種内分化」日本育種学会第110回講演会 (2006年9月23日、松山市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松岡 由浩 (MATSUOKA YOSHIHIRO)
公立大学法人福井県立大学・生物資源学部・講師
研究者番号：80264688

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし