

令和 5 年 6 月 14 日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K05982

研究課題名(和文) コムギ縞萎縮病に高度な抵抗性を示すYmym遺伝子領域の特性解明と候補遺伝子の探索

研究課題名(英文) Characterization of Q.Ymym region showing high resistance to wheat yellow mosaic virus

研究代表者

小林 史典 (Kobayashi, Fuminori)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・作物研究部門・上級研究員

研究者番号：80584086

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：コムギ縞萎縮病は、コムギ縞萎縮ウイルスを病原とする土壌伝染性の病害である。北海道の超強力コムギ品種「ゆめちから」が保有する抵抗性QTLのQ.Ymymは、本病に対して高度な抵抗性を示す。これまでの研究から、Q.Ymym領域は遺伝的組換えが起きにくく、それが当該領域の配列の特異性に起因すると推察された。このことは、Q.Ymymの実体解明を困難にしている。本研究では、Q.Ymymの遺伝子同定のためにコムギのゲノム情報を利用してQ.Ymym領域の構造を明らかにし、発現遺伝子の情報を取得した。また、Q.Ymymの候補遺伝子を特定するための材料を養成し、コムギ遺伝資源を用いて当該領域の由来を探索した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、ゲノム情報が整備された世界各国、特に欧米のコムギ品種の中には、「ゆめちから」のQ.Ymym領域と同様のハプロタイプブロックを持つ品種が存在し、当該領域がこれまでの品種改良の長い歴史の中で高度に保存されてきたものと考えられた。本研究では、Q.Ymym領域全体に渡って配列構造が特異的であり、またそれがコムギの近縁野生種に由来する可能性を示した。このことが、当該領域での遺伝的組換えを抑制する原因であることを強く示唆した。

研究成果の概要(英文)：Yellow mosaic disease, caused by wheat yellow mosaic virus (WYMV), is one of the most serious diseases of winter wheat in Japan and China. A single major QTL for WYMV resistance in Japanese wheat variety 'Yumechikara', designated Q.Ymym, has been mapped on chromosome 2D. Mapping analysis of Q.Ymym previously indicated that 31 markers tightly linked to the QTL, suggesting that strong linkage block surrounded the Q.Ymym region. The sequence features of the Q.Ymym region were unique in comparison to reference sequences, which may have led to the low recombination rate within the block. In this study, in order to isolate Q.Ymym candidate genes, we used wheat genome information to clarify the structure of the Q.Ymym region and obtain information on expressed genes. In addition, we developed materials for identifying the Q.Ymym candidate gene and searched for the origin of this region using wheat genetic resources.

研究分野：植物遺伝学

キーワード：コムギ コムギ縞萎縮病 2D染色体 Q.Ymym

1. 研究開始当初の背景

コムギ縞萎縮病は、コムギ縞萎縮ウイルス (Wheat yellow mosaic virus; WYMV) を病原とする土壌伝染性の病害である。コムギの主要生産地である北海道では、本病により毎年約 36% 減収しており、近年では全国各地でも被害が報告されている。縞萎縮病に対する実用的な防除薬剤はないため、各地に適応した抵抗性品種の早急な育成が求められている。国内の小麦生産に深刻な被害をもたらす縞萎縮病の研究は、食料安全保障の観点からもその重要性は極めて高く、現在様々な研究プロジェクトにおいて喫緊の課題として位置付けられている。

国内の縞萎縮病は、I 型 (関東~九州)、II 型 (北海道、東北)、III 型 (福岡県) に分類される。北海道のコムギ品種「ゆめちから」が持つ抵抗性 QTL の *Q.Ymym* は、I 型に対する抵抗性遺伝子として発見された。その後の解析から、II 型と III 型にも効果があり、国内全ての縞萎縮病に対して高度の抵抗性を示すことがわかった。*Q.Ymym* は育種にも広く利用される重要な遺伝子であり、その実体の解明は抵抗性メカニズムを理解する上で、極めて重要である。

これまでの *Q.Ymym* 領域の解析から、以下の知見を得た。(1) *Q.Ymym* 遺伝子は、2D 染色体長腕の末端部に座乗する。(2) 当該領域は、強連鎖ブロックを形成している (遺伝的組換えが起きにくい)。(3) 強連鎖ブロックの範囲は、約 68.5 Mb に及ぶ (2D 染色体全体の 10.5% に相当)。(4) *Q.Ymym* は、強連鎖ブロック内の約 39.3 Mb の領域に存在する。(5) *Q.Ymym* 領域は、特殊な塩基配列の変異を持つ。(5) 強連鎖ブロックは、「ゆめちから」と系譜の異なる他の品種にも存在する。以上より、*Q.Ymym* 領域はそのゲノムサイズと座乗位置にもかかわらず遺伝的な組換えが抑制されており、現在のところ当該領域のゲノム配列の特異性がその原因と考えている。しかし詳細は不明であり、大規模な欠失のような染色体レベルの構造的変異の可能性も捨て切れない。

非常に特徴的なゲノム領域であるが、栽培コムギ品種の中には、2D 染色体長腕にこのような抵抗性に関わるハプロタイプブロックを共通に持つものが存在しており、それは品種改良の長い歴史の中で高度に保存されてきたと考えられる。しかしその由来は不明であり、近縁野生種に由来する可能性もあるが、未解明である。

以上のように、*Q.Ymym* 領域はコムギの栽培にとって重要なゲノム領域である。しかし、その構造は未だ不明な点が多い。*Q.Ymym* 領域のゲノム構造やその由来の理解は、コムギ遺伝学および育種学にとって非常に重要な知見を与える。また、国内全ての WYMV に対して効果があることから、欧米で問題となっている WYMV に近縁の土壌伝染性ウイルス wheat spindle streak mosaic virus (WSSMV) にも効く可能性が高い。*Q.Ymym* 遺伝子の実体解明は、土壌伝染性のウイルス病に対する抵抗性メカニズムの解明のみならず、パーフェクトマーカーによるコムギの抵抗性育種のさらなる効率化の実現、さらには他作物のウイルス病抵抗性育種への応用も期待できる。

2. 研究の目的

本研究の主目的は、*Q.Ymym* の実体の解明である。しかし、遺伝的な組換えが起きにくい当該領域においては、マップベースクローニングのような正攻法による遺伝子単離は極めて困難である。本申請では、目的達成のために以下の研究を実施する。

(1) 様々な品種のコムギゲノム情報を使って、*Q.Ymym* 領域のゲノム構造を解析する。また RNA-seq 解析によって発現遺伝子情報も取得する。これにより *Q.Ymym* 特有のゲノム構造と遺伝子構造、発現パターンを明らかにし、*Q.Ymym* の候補遺伝子を絞り込む。

(2) *Q.Ymym* の準同質遺伝子系統「TY714-10」の突然変異体集団を養成する。これらの中から縞萎縮病に感受性を示す個体を探索し、*Q.Ymym* の実体に迫れる強力な材料を獲得する。

(3) *Q.Ymym* 領域の由来を探索するために、コムギ近縁野生種を供試する。「ゆめちから」と同様の配列変異を持つ系統を探索して抵抗性試験を行う。野生種の縞萎縮病抵抗性に関する報告はなく、学術的にも興味深い。

3. 研究の方法

(1) コムギの参照ゲノム配列情報 (IWGSC RefSeq) に加えて、2020 年に公開されたコムギパンゲノム情報 (世界各国の 10 品種) の 2D 染色体ゲノム情報を使い、*Q.Ymym* 領域の遺伝子配列を網羅する。また RNA-seq 法による発現遺伝子情報の取得も行い、各配列の発現パターンからも候補遺伝子の推定を行う。

(2) 「TY714-10」の突然変異体集団を作出し、感受性を示す変異体の探索を行う。感受性個体が得られた場合、バルク分離分析等による原因遺伝子の同定解析を検討し、そのための材料養成を進める。

(3) *Q.Ymym* 領域の抵抗性ハプロタイプを持つコムギ近縁野生種を探索し、抵抗性試験に供試する。

4. 研究成果

(1) これまでの解析から、*Q.Ymym* 領域内 5 カ所のゲノム配列を構築し、当該領域が特殊な塩

基配列構造を持つことを明らかにした。その特殊性が他の品種にも存在するかどうかを調査するために、2020年に公開されたコムギパンゲノム解析品種(10品種)のゲノムデータなどについて、*Q. Ymym*領域に相当する領域の配列調査を行った。調査した10品種のうち、「ArinaLrFor」(スイス)、「Jagger」(米国)、「Julius」(ドイツ)、「SY Mattis」(フランス)が、*Q. Ymym*領域と同様のハプロタイプブロックを持つと推定された。これらゲノム配列の比較解析の結果、抵抗性型品種と罹病性品種とでは、*Q. Ymym*領域を含む2D染色体上の約50 Mbの領域に渡って相同性が低いことが明らかとなった。以上の4品種について、*Q. Ymym*に相当する領域には約470個の遺伝子がアノテーションされていたが、それ以外の品種では約500個の遺伝子がアノテーションされていた。また、2021年に公開されたコムギ品種「Fielder」のゲノムデータを用いて、*Q. Ymym*領域に相当する領域の比較解析および遺伝子配列調査を行った。その結果、「Fielder」は約33 Mbの*Q. Ymym*領域内の一部(14.6 Mb)が抵抗性品種と同様のハプロタイプブロックであることがわかった。「Fielder」は縞萎縮病に抵抗性を示すが、当該領域に抵抗性遺伝子を持つ場合には、*Q. Ymym*領域はこの14.6 Mbの領域にさらに絞ることができる。

発現遺伝子の調査は、宇都宮市の縞萎縮病Ⅰ型汚染圃場で栽培した*Q. Ymym*を持つ系統(ゆめちから、TY714-10、BC4F6-Y)と持たない系統(タマイズミ、BC4F6-T、きたほなみ)(いずれも2018年3月サンプリング)を材料に、それぞれの葉と根についてRNA-seq解析を実施した。*Q. Ymym*を持つ系統と持たない系統との間で発現量に差が見られた遺伝子が194個あった。*Q. Ymym*領域が14.6 Mbに絞られる場合、その数は84個になる。このうち、葉と根の両方で差がある遺伝子は30個になる。

(2) *Q. Ymym*の候補遺伝子を探索するために、「TY714-10」のEMS処理による突然変異体集団を作出した。EMS処理した「TY714-10」の種子(3000粒)から、M2集団(約2000個体×10セット)を作出した。このうち1セットずつを宇都宮の汚染圃場に2シーズン(2019-2020年、2020-2021年)播種したが、感受性個体を得ることができなかった。そこで、2021-2022年シーズンに福岡県柳川市の縞萎縮病Ⅲ型汚染圃場で突然変異体集団1セットの栽培試験を実施した。その結果、達観調査で葉の黄化が見られた20個体を選定した。これらについて、ELISA試験によるウイルス感染を調査したところ、2個体でウイルス感染が確認された。この2個体を含む20個体について、縞萎縮病Ⅲ型汚染圃場での2回目の栽培試験(2022-2023年)を実施し、ELISA試験によるウイルス感染を調査した。その結果、前シーズンに感染が見られた2個体ではウイルス感染が確認されなかったが、別の1個体でウイルス感染が確認された。ウイルス感染が安定的に観察されないケースもあることから、以上の3系統を*Q. Ymym*候補遺伝子破壊の候補系統として、現在、分離集団の養成および全ゲノムシーケンス解析を実施している。今後、これらの栽培試験の追試と配列データの解析により、候補遺伝子の絞り込みができるものと考えられる。

(3) *Q. Ymym*領域の由来を調査するために、「ゆめちから」の系譜上の品種・系統およびコムギ近縁種を用いて、*Q. Ymym*領域で見出された配列変異を検出できるDNAマーカーにより調査した。その結果、*Q. Ymym*は米国のコムギ系統「KS831957」さらにその親の「Plainsman V」に由来すると考えられた。また、近縁野生種*Aegilops triaristata*に「ゆめちから」と同様の多型が検出され、縞萎縮病Ⅰ型に対して抵抗性を示した。以上のことから、*Q. Ymym*領域は野生種から移入された可能性が高い。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 小林史典、小島久代、石川吾郎、乙部千雅子、藤田雅也、中村俊樹	4. 巻 22
2. 論文標題 コムギ品種「ゆめちから」における高活性型ポリフェノール酸化酵素とコムギ縞萎縮病抵抗性遺伝子間の強連鎖の解消と新規抵抗性母本の形質評価	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 育種学研究	6. 最初と最後の頁 1~10
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1270/jsbbr.19J10	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 小島久代、小林史典	4. 巻 8
2. 論文標題 コムギ縞萎縮病抵抗性育種におけるDNAマーカーの開発と利用	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 JATAFFジャーナル	6. 最初と最後の頁 11~15
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kobayashi F, Kojima H, Tanaka T, Saito M, Kiribuchi-Otobe C, Nakamura T	4. 巻 139
2. 論文標題 Characterization of the Q.Ymym region on wheat chromosome 2D associated with wheat yellow mosaic virus resistance	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Plant Breeding	6. 最初と最後の頁 93-106
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/pbr.12759	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 小林史典、小島久代、西尾善太
2. 発表標題 コムギ縞萎縮病抵抗性品種「ゆめちから」の2D染色体で検出された配列変異のコムギ近縁種における調査
3. 学会等名 第14回ムギ類研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小林史典、小島久代、石川吾郎、高山俊之、藤郷誠、中村和弘、松中仁、乙部千雅子、藤田雅也、中村俊樹
2. 発表標題 コムギ2D染色体上のポリフェノール酸化酵素コムギ縞萎縮病抵抗性遺伝子との強連鎖を解消した新規抵抗性母本の開発と形質評価
3. 学会等名 第11回グルテン研究会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	小島 久代 (Kojima Hisayo) (70547728)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・作物研究部門・主任研究員 (82111)	
研究分担者	藤郷 誠 (Tougou Makoto) (30355292)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・作物研究部門・上級研究員 (82111)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------