

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 4月 9日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2008～2011

課題番号：20380006

研究課題名（和文）オオムギ染色体断片系統の育成とPCRによる系統選抜方法の開発

研究課題名（英文）Production of barley chromosome dissection lines and development of PCR-based screening method

研究代表者

遠藤 隆（京都大学・大学院農学研究科・教授）（ENDO TAKASHI）

研究者番号：60068830

研究成果の概要（和文）：

パンコムギに導入されているオオムギ染色体（1H～7H）に多数の染色体断片系統を、パンコムギの配偶子致死（Gc）システムにより育成すると同時に、オオムギ染色体断片をPCRで検出する方法の開発を目指した。その結果、2H, 3H, 4H, 5H, 7Hの各染色体については、染色体断片系統を50系統以上育成でき、オオムギ染色体断片を検出できるPCRマーカーを得た。6Hについては系統数は不十分であり、1HについてはGcシステムに導入することが困難であることが明らかになった。

研究成果の概要（英文）：

It was aimed to produce dissection lines of barley chromosomes (1H~7H) in common wheat using the gametocidal (Gc) system and to develop a PCR-based method for the selection of the dissection lines. As a result, more than 50 dissection lines were obtained for 2H, 3H, 4H, 5H and 7H, and effective PCR markers were found to detect the presence of the individual dissected barley segments. Enough number of dissection lines for 6H were not obtained and it was found difficult to apply the Gc system to 1H.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	3,900,000	1,170,000	5,070,000
2009年度	3,500,000	1,050,000	4,550,000
2010年度	3,500,000	1,050,000	4,550,000
2011年度	3,500,000	1,050,000	4,550,000
年度			
総計	14,400,000	4,320,000	18,720,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学・育種学

キーワード：オオムギ、コムギ、染色体、染色体地図、染色体断片、Gcシステム、PCR

1. 研究開始当初の背景

オオムギ・ゲノムの解読を目指して完全長ESTの解読やBACライブラリーの構築・解読が開始されていたが、その巨大なゲノムサイズ故に、たとえDNA配列が読まれても、それらを一続き（コンティグ）にすることは極めて困難なことであった。このような状況であったので、オオムギ・ゲノムのコンティグを作成するには、オオムギ

の各染色体が、物理的に分断された系統（染色体断片系統）が極めて有用であることは明らかであった。本研究開始までに、研究代表者（遠藤）は、自身が開発した配偶子致死（Gc）システムを利用して、一部のオオムギ染色体について染色体切断を誘発し、オオムギ染色体断片を保有する系統を育成できることを明らかにしていた。

2. 研究の目的

(1) パンコムギに個別に導入されているオオムギ染色体 (1H~7H) について、多数の染色体断片系統を育成 (各染色体につき50系統以上) する。

(2) オオムギ染色体断片の存在を簡単なPCR解析で同定できる方法を開発する。

(3) PCRによって選抜可能であることが確認できたオオムギ染色体断片系統をナショナルバイオリソースプロジェクト (NBRP) ・コムギに寄託する。

3. 研究の方法

(1) 2H, 3H, 4H, 5H, 6H, 7H染色体については、順次、それぞれの染色体断片を50種類以上を、FISH/GISH法で同定し、系統として育成する。

(2) 1H染色体については、Gcシステムに導入するための交配を行い、最終年度までに50種類以上の1H染色体断片をFISH/GISHで同定・選抜し、系統として育成する。

(3) オオムギ染色体の染色体断片系統について、座上染色体が決定されているオオムギESTマーカーを用いてPCR解析を行う。

(4) PCR解析により、それぞれのオオムギ染色体について、動原体に最も近接した長腕、短腕のESTマーカーを同定する。

(5) オオムギのゲノム特異的PCRマーカーを開発する。

(6) オオムギ染色体腕特異的な動原体近接ESTマーカーとオオムギ・ゲノム特異的PCRマーカーを用いてオオムギ染色体断片系統の選抜が可能であることを確認する。

4. 研究成果

研究の目的は、(1)オオムギ染色体 (1H~7H) に多数のオオムギ染色体断片系統を育成する、

(2)各オオムギ染色体断片の存在を簡単なPCR解析で同定できるようなPCRプライマーを明らかにする、(3) 同定されたオオムギ染色体断片系統をナショナルバイオリソースプロジェクト

(NBRP) ・コムギに寄託する、であった。

以下に、それぞれのオオムギ染色体について、(1)、(2)、(3)の項目についての成果及び最終年度における状況を記す。

1H

(1) 未完了：染色体断片系統を得るための基本系統 ($2n=47, 21''+1H''+6H''+Gc'$) を得ることはできなかったが、基本系統に代わる個体 ($2n=46, 21''+1H'+6H''+Gc'$) を得た。この $2n=26$ 個体に正常パンコムギを交配して約600の種子を得たので、これらから1H染色体断片を選抜する予定。

(2) 未完了

(3) 未完了

2H

(1) 完了：2種類のGcシステムを利用して、66系統の染色体断片系統を得た。

(2) 完了：115ESTマーカーを用いてPCR解析を行い、2Hの連鎖地図との比較した結果を論文として公表した (Joshi et al. 2011)。

(3) 未完了：登録のために系統及びデータを整理中。

3H

(1) 完了：Gcシステムを利用して50系統の染色体断片系統を得た。

(2) 完了：36ESTマーカーを用いてPCR解析を行い、3Hの連鎖地図との比較した結果を論文として公表した (Sakai et al. 2009)。

(3) 未完了：登録のために系統及びデータを整理中。

4H

(1) 完了：Gcシステムを利用して60系統の染色体断片系統を得た。

(2) 完了：93ESTマーカーを用いてPCR解析を行い、3Hの連鎖地図との比較した結果を論文として公表した (Sakata et al. 2010)。

(3) 未完了：登録のために系統及びデータを整理中。

5H

(1) 完了：本研究開始前にGcシステムを利用して23系統の染色体断片系統を得ていた。本研究期間中にさらに系統を選抜して合計120系統まで増やした。

(2) 完了：本研究開始前に23染色体断片系統と97ESTマーカーを用いてPCR解析を行い、5Hの連鎖地図との比較した結果を論文として公表した (Ashida et al. 2007)。

(3) 未完了：登録のために系統を増殖し、系統及びデータを整理中。

6H

- (1) 完了：染色体断片系統を得るための基本系統 ($2n=45, 21''+6H''+Gc'$) を確立した。本研究の期間中に選抜できた6H染色体断片系統は30系統程度であったので、さらに選抜を継続する。
- (2) 未完了：染色体断片系統の数を増やした後PCR解析を行い、結果を論文とし公表する予定。
- (3) 未完了：登録のために系統及びデータを整理中。

7H

- (1) 完了：本研究開始前にG c システムを利用して90系統の染色体断片系統を得ていた。
- (2) 完了：本研究開始前に90染色体断片系統をSSRとAFLPマーカーを用いてradiation hybrid mappingを行い、結果を論文として公表した (Masoudi-Nejad et al. 2005)。
- (3) 未完了：登録のために系統を増殖し、系統及びデータを整理中。

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 Joshi GP, Nasuda S, Endo TR, Dissection and cytological mapping of barley chromosome 2H in the genetic background of common wheat, Genes & Genetic Systems, 査読有、Vol. 86、2011、231-248
https://www.istage.ist.go.jp/article/ggs/86/4/86_4_231/pdf
- ② Sakata M, Nasuda S, Endo TR, Dissection of barley chromosome 4H in common wheat by the gametocidal system and cytological mapping of chromosome 4H with EST markers, Genes & Genetic Systems, 査読有、Vol. 85、2010、19-29
https://www.istage.ist.go.jp/article/ggs/85/1/85_1_19/pdf
- ③ Sakai K, Nasuda S, Sato K, Endo TR, Dissection of barley chromosome 3H in common wheat and a comparison of 3H physical and genetic maps, Genes & Genetic Systems, 査読有、Vol. 84、2009、25-34
https://www.istage.ist.go.jp/article/ggs/84/1/84_1_25/pdf
- ④ Endo TR
Cytological dissection of barley genome by the gametocidal system Breeding Science, 査読有、Vol. 59、2009、481-486
https://www.istage.ist.go.jp/article/jsbbs/59/5/59_5_481/pdf
- ⑤ Sakata M, Nasuda S, Endo TR, Is barley chromosome 4H dicentric?: A cytological evidence with common wheat lines carrying deleted 4H chromosomes eWIS, 査読無、No.110、2010、1-3
<http://www.shigen.nig.ac.jp/ewis/article/html/76/article.html;jsessionid=EDBD4A5107FE573507B2255D5EE978BC.4.5>
- ⑥ Sakai K, Endo TR, Nasuda S
Establishment of 14 wheat lines carrying telosomes of barley chromosome 7H eWIS, 査読無、No.107、2009、17-18
<http://www.shigen.nig.ac.jp/ewis/article/html/44/article.html>

[学会発表] (計4件)

- ① Joshi GP, Nasuda S, Endo TR,
Dissection and cytological mapping
of barley chromosome 2H in the
genetic background of common whea,
日本遺伝学会第83回大会、2011年9月
22日、京都
- ② Endo TR,
Dissection of barley genome
by the gametocidal system,
6th International Triticeae
Symposium、2009年6月1日、京都
- ③ Endo TR,
Genome shuffling in Triticeae,
3rd Asian Chromosome
Colloquium、2008年12月3日、大阪
- ④ Endo TR,
A fine cytological mapping of
rye chromosome 1R
10th Gatersleben Research
Conference (GRCX)、2010年11月24
日、Gatersleben、Germany

[図書] (計1件)

- ① Masoudi-Nejad A, Endo TR,
Gametocidal mapping: A method for
high-throughput gene mapping in
post-genomics era. In: Chromosome
Mapping Research Developments (eds.:
JF Verrity and LE Abbington)、2008、
pp. 1-33. Nova Science Publishers,
Inc., New York

6. 研究組織

(1) 研究代表者

遠藤 隆 (ENDO TAKASHI)
京都大学・農学研究科・教授
研究者番号：60068830

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：