

## 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 6 月 5 日現在

機関番号：23401

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21770090

研究課題名（和文）イネ科植物における倍数種形成の初期過程：進化の再現系を用いた遺伝基盤の解明

研究課題名（英文）Genetic mechanism that underlies the early process of polyploid formation in grasses: an empirical study with synthetic polyploids

研究代表者

松岡 由浩（MATSUOKA YOSHIHIRO）

福井県立大学・生物資源学部・准教授

研究者番号：80264688

研究成果の概要（和文）：イネ科植物における倍数種形成メカニズムを明らかにすることを目指し、倍数化を導く配偶子形成に関わる遺伝子の解析に用いるコムギ実験系統を作出した。また、コムギ種間3倍体雑種にみられる、倍数種形成に「つながる」配偶子形成と「つながらない」配偶子形成を比較観察したところ、後者では、減数分裂の初期段階での重大な障害が生じ、これが主な原因となって稔性のある配偶子が形成されず、不稔となる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：Toward a better understanding of the genetic mechanism that underlies the early process of polyploid formation in grasses, wheat experimental lines for polyploidization-gene mapping were produced. In addition, comparative pollen mother cell analysis in wheat triploid hybrids suggested that it is the early stage of meiosis that holds the key to successful production of functional 2n gametes.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	500,000	150,000	650,000
2010年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2011年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・生物多様性・分類

キーワード：種分化・倍数性進化

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 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・多様化の主要な原動力である。しかし、このプロセスは非常に複雑であり、関与する遺伝メカニズムの詳細は未だ不明である。申請者は、多数のタルホコムギ（*Aegilops tauschii*, 2倍体、野生種、♂親）系統を用いて交配実験を行ない、特定の二粒系コムギ（*Triticum turgidum*, 4倍体、栽培型、♀親）系統と交雑した場合、正常に成長し高い自殖種子稔性

をもつ F<sub>1</sub> 雑種（3倍体）を生じる系統と、正常に成長するが不稔となる F<sub>1</sub> 雑種（3倍体）を生じる系統が存在することを見出した。そして、(1) 高い自殖種子稔性をもつ 3倍体 F<sub>1</sub> 雑種は特異な様式の減数分裂によって 2n 配偶子を高頻度に形成し、F<sub>2</sub> で安定な 6倍体を生じること、(2) タルホコムギの種内には、3倍体 F<sub>1</sub> 雑種の稔性の高低を決定する能力に関して、系統地理的構造をもつナチュラル・バリエーションが存在すること、(3) 3倍体 F<sub>1</sub> 雑種の 2n 配偶子形成には、タルホコム

ギ・ゲノム上の6個の量的形質遺伝子座が関与していること、を明らかとした。これらの研究成果により、3倍体F<sub>1</sub>雑種の2n配偶子形成能力は、明確な遺伝基盤をもつことが示された。しかし、現在までの解析は、3倍体F<sub>1</sub>雑種のもつゲノムのうち、タルホコムギ由来のゲノムのみを対象としている。このため、二粒系コムギ由来のゲノムが2n配偶子形成にどのように関与するのかは不明であった。

(2) 2n配偶子形成の遺伝基盤の全体像を把握するためには、二粒系コムギ・ゲノムに存在する因子の解析が必要不可欠である。そこで、申請者は、特定のタルホコムギ系統(♂親)と多数の二粒系コムギ系統(野生型、栽培型を含む)を交配し、二粒系コムギの中に、正常に成長し高い自殖種子稔性(>50%)をもつF<sub>1</sub>雑種を生じる系統(タイプA)と、正常に成長するが完全に不稔となるF<sub>1</sub>雑種を生じる系統(タイプB)を見出した。タイプAの二粒系コムギ由来のF<sub>1</sub>雑種は、特異な様式の減数分裂によって2n配偶子を高頻度に形成し、F<sub>2</sub>で安定な6倍体を生じる。現在、パンやうどんの材料として栽培される6倍性パンコムギ(*Triticum aestivum*)は、二粒系コムギとタルホコムギの自然交雑によって誕生したことが知られている。従って、この交配実験系を用いれば、コルヒチン処理やembryo rescueなどの化学的操作を一切用いることなく、自然界で起きた種間交雑-倍数化による種形成の初期プロセスを容易に再現できる。また、タイプAとタイプBに由来するF<sub>1</sub>雑種の表現型の違いを利用すれば、2n配偶子形成に関与する二粒系コムギ遺伝子のマッピングが可能である。これらの成果・アイデアを得て、申請者は、この「進化を再現」する交配実験系が、2n配偶子形成に関与する二粒系コムギ・ゲノム上の因子を研究するための、非常に好適な材料であることを認識し、本研究を企画した。

(3) 近年、倍数化とは、単なる遺伝子やゲノムの付加的な加算ではなく、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メカニズムの研究が活発化した。現在のところ、倍数化後の雑種ゲノムで生じる遺伝的变化が研究の主な焦点であるが、今後は、種間交雑から2n配偶子形成に至る、倍数種形成の初期過程も主要な研究テーマになるとみられる。本研究は、イネ科倍数種のモデルとしてコムギを採用し、この分野への挑戦を試みる。

(4) 2n配偶子形成の遺伝機構については、シロイヌナズナの人為突然変異体を利用し

た研究が行なわれている。しかし、一般に、モデル植物は2倍体であり、実験の際、倍数化プロセスを再現するために、人為的な処理が多用される。このため、自然界での倍数種形成の遺伝メカニズムを解明するためには、より自然な形でプロセスを再現できる系を用いた研究が求められる。そこで、本研究は、「進化の再現系」として倍数性進化の研究に用いることができる、コムギを材料としてこの要請に応える。

(5) 倍数種形成は、極めて進化的に重要な事象であるにも関わらず、その遺伝メカニズムの解明は十分には進んでいない。これは、倍数種形成が、非常に複雑なプロセスであることに加えて、従来の分子遺伝学研究のモデル生物が、倍数性進化を研究する上で、必ずしも有用でなかったことに一因がある。一方、近年の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、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、倍数種形成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。

(6) 2n配偶子形成の遺伝機構は、近年の減数分裂研究の進展にもかかわらず、未だ不明の点が多い。本研究により、2n配偶子形成に関与する量的形質遺伝子座の数、ゲノム上の位置と機能を推定するために必要となるコムギ実験系統を作出できれば、イネ科植物の2n配偶子形成の遺伝機構に関する新しい知見の獲得につながると期待される。上述したタルホコムギ(2倍体)での実験結果からみて、二粒系コムギ(4倍体)にも、複数個の量的形質遺伝子座が存在することが予想される。

## 2. 研究の目的

本研究では、イネ科の代表的な倍数種であるコムギをモデルとして、2n配偶子形成の遺伝基盤を明らかにすることを旨とし、以下の課題に取り組む。

(1) 2n配偶子形成に関わる二粒系コムギ遺伝子をマッピングするための分離集団の作出

(2) 2n配偶子形成の広義の遺伝率の推定

(3) 2n配偶子を「形成する」減数分裂と「形成しない」減数分裂の比較観察

### 3. 研究の方法

#### (1) 2n 配偶子形成に関わる二粒系コムギ遺伝子をマッピングするための分離集団の作出

二粒系コムギには、タルホコムギとの交配において正常に成長し高い自殖種子稔性 (> 50%) をもつ F<sub>1</sub> 雑種を生じる系統 (タイプ A) と、正常に成長するが完全に不稔となる F<sub>1</sub> 雑種を生じる系統 (タイプ B) が存在する。そこで、2n 配偶子形成に関わる二粒系コムギ遺伝子をマッピングするために必要となる分離集団を作出するため、タイプ A とタイプ B の二粒系コムギを交配して得た F<sub>1</sub> に、タルホコムギの花粉を授粉して交配し、3 倍体個体からなる F<sub>1</sub> 集団を育成する。♀親がタイプ A とタイプ B の F<sub>1</sub> 雑種であることから、この 3 倍体個体集団では、稔性がある個体と不稔の個体が分離することが期待される。

#### (2) 2n 配偶子形成の広義の遺伝率の推定

タイプ A とタイプ B のそれぞれの二粒系コムギにタルホコムギを交配して作出した 3 倍体 F<sub>1</sub> 個体 (各 20 個体) と上記 (1) で作出した分離集団 (20 個体) を栽培・育成し、各個体の自殖種子稔性を着粒率として計測する。次いで、系統・集団ごとの着粒率の分散を用いて、2n 配偶子形成の広義の遺伝率を推定する。

#### (3) 2n 配偶子を「形成する」減数分裂と「形成しない」減数分裂の比較観察

2n 配偶子を「形成する」減数分裂と「形成しない」減数分裂の細胞学的な違いを明らかにするため、タイプ A 二粒系コムギとタルホコムギを交配して得た 3 倍体 F<sub>1</sub> (高自殖種子稔性) とタイプ B 二粒系コムギとタルホコムギを交配して得た 3 倍体 F<sub>1</sub> (不稔) の花粉母細胞を材料として、減数分裂過程を比較解析する。

### 4. 研究成果

#### (1) 2n 配偶子形成に関わる二粒系コムギ遺伝子をマッピングするための分離集団の作出

①タイプ A 二粒系コムギとタイプ B 二粒系コムギの交雑 F<sub>1</sub> を育成したところ、順調に生育し、正常な稔性を示した。これにより、この交配組み合わせを用いれば、雑種生育異常の影響を受けることなく、2n 配偶子形成に関わる遺伝子をマッピングするための分離集団が育成できることが確認された。

②タイプ A 二粒系コムギとタイプ B 二粒系コムギの交雑 F<sub>1</sub> にタルホコムギを交配し、分離集団個体種子 625 粒を得た。

③分離集団個体種子の発芽率を調査したところ、60%程度であることが分かった。従って、本研究により、2n 配偶子形成に関わる遺伝子をマッピングに向けて、375 個体程度の分離集団の作出が完了した。

#### (2) 2n 配偶子形成の広義の遺伝率の推定

①上記 (1) で作出した分離集団 (20 個体) を播種・育成し、「稔性がある個体」と「不稔の個体」が分離することを確認した。

②タイプ A とタイプ B のそれぞれの二粒系コムギにタルホコムギを交配して作出した 3 倍体 F<sub>1</sub> 個体 (各 20 個体) と上記の分離集団 (20 個体) の着粒率データに基づき 2n 配偶子形成の広義の遺伝率を推定したところ、0.8 程度であった。このことは、2n 配偶子形成を「する」か「しない」かは、環境要因よりも遺伝的な要因の影響が大きいことを意味する。

#### (3) 2n 配偶子を「形成する」減数分裂と「形成しない」減数分裂の比較観察

タイプ A 二粒系コムギとタルホコムギの交配により作出した高自殖種子稔性 3 倍体 F<sub>1</sub> とタイプ B 二粒系コムギとタルホコムギの交配により作出した不稔 3 倍体 F<sub>1</sub> の花粉母細胞を用いて減数分裂過程を比較観察したところ、前者では、非還元減数分裂を通じて、稔性のある 2n 配偶子が形成されることが分かった。一方、後者では、初期段階での重大な障害により、非還元減数分裂が正常に進行せず、これが主な原因となって不稔となる可能性が示唆された。

### 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 1 件)

#### ① Matsuoka Y

Evolution of polyploid *Triticum* wheats under cultivation: the role of domestication, natural hybridization, and allopolyploid speciation in their diversification.

Plant and Cell Physiology 52: 750-764 (2011) (査読有)

[学会発表] (計 2 件)

#### ① 松岡由浩

「3 倍体コムギの減数分裂：高着粒率系統と停着粒率系統の比較」

日本遺伝学会第 83 回大会 (京都) (2011 年 9 月 22 日)

②宅見薫雄、松岡由浩、那須田周平

「倍数性進化の再現系を利用したコムギ多様性解析：リソースの保全された変異の顕在化」

日本遺伝学会第83回大会（京都）（2011年9月22日）

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松岡 由浩 (MATSUOKA YOSHIHIRO)

福井県立大学・生物資源学部・准教授

研究者番号：80264688

(2) 研究分担者

該当なし ( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

該当なし ( )

研究者番号：