

令和 6 年 6 月 27 日現在

機関番号：15501

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H02188

研究課題名（和文）オミックス統合解析による葉ネギ品種の耐暑性と機能性に関与する遺伝子の探索

研究課題名（英文）Multi-omics study for targeting genes related to heat tolerance and functionality in leaf bunching onion cultivar

研究代表者

執行 正義（SHIGYO, MASAYOSHI）

山口大学・大学院創成科学研究科 ・教授

研究者番号：40314827

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,400,000 円

研究成果の概要（和文）：葉ネギを日本人が利用してきた歴史は古く、古来より薬味として用いられるほか、炒め物、汁の美、鍋料理に欠かせない食材の一つとなっていた。また、ネギは潜在的に有用な健康食材と信じられており、このことは今日の医科学分野での基礎研究や広範な臨床研究においても立証されている。本研究では、機能性代謝物の宝庫であるネギの化学成分群（含硫化合物、炭水化物、フラボノイド類、サポニン類）に着目し、耐暑性葉ネギ系統や濃緑色葉身部をもつ山口県オリジナル育種系統のオミックス統合解析を実施した。より具体的にいうと、持続可能な農業生産に役立つ耐暑性と健康機能性に関与する代謝物生産の遺伝系をほぼ解明したと言えよう。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の学術的意義は、栽培学、園芸育種学、生物化学、ゲノム科学、生命情報科学の知見を融合し、温暖化に強い耐暑性葉ネギ品種を開発する点にある。これにより、気候変動が進む中でも葉ネギの安定生産と持続可能性が向上する。社会的意義として、新品種が開発が山口県など主要産地の経済損失を軽減し、国内外市場での競争力を強化することが期待される。また、コールドチェーンの整備により国内市場での周年供給が実現し、消費者への高品質葉ネギの安定供給が可能となっており、欧米市場への進出を視野に入れた国際的需要の拡大も見込まれる。その様な状況下で、世界の研究者や育種家から求められる生物情報の整備が行われたことは意義深い。

研究成果の概要（英文）：Japanese bunching onions (JBOs) have been used by the Japanese people for a long time and have been one of the essential ingredients in stir-fries, soups, and nabe dishes, in addition to being used as a condiment since ancient times. In addition, JBOs are believed to be a potentially useful health food, and this has been substantiated in today's basic research in the field of medical science and in extensive clinical studies. In this study, we focused on the chemical constituent groups (sulfur-containing compounds, carbohydrates, flavonoids, and saponins) of JBOs, which are a treasure trove of functional metabolites, and conducted an integrated omics analysis of heat-resistant leaf leek lines and Yamaguchi Prefecture original breeding lines with dark green leaf blade parts. More specifically, we have almost elucidated the genetic systems of metabolite productions involved in heat tolerance and health functionality, which are useful for sustainable agricultural production.

研究分野：野菜園芸学

キーワード：葉ネギ 濃緑色性 自然免疫活性化 耐暑性 機能性 オミックス統合解析 新品種

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ネギを人類が栽培した歴史は紀元前2世紀の中国まで遡ることができ、漢代に書かれた「礼記(らいき)」読み下し文によると「葱若しくは大薤を切りて之を實れ、醃にして以て之を柔ぐ」との記載があり、人々の生活にネギ類が浸透していたことが窺え、おそらく食生活改善に貢献する健康食材と信じられていたのだろう。このことは今日の医科学分野での基礎・臨床研究においても検証され続けている。ネギを食べると、「免疫が高まる」や「風邪が治る」といった免疫活性化作用に係わる民間伝承がある。このような現象を切り口として、ネギが産生する粘液に着目した研究が農研機構野菜花き研究部門において行われた(上田, 2019)。一連の研究により、粘液中に含まれるマンノース結合型レクチン(MBL)が免疫活性化作用に強く関与することが判明した。本タンパクは、細菌のウイルス表面に発現しているマンノースに特異的に結合し、植物サイドでは感染防御因子として分泌されているとの説がある。また、同タンパクはヒトの体液中にも存在し、感染微生物を認識し、免疫系を機能させる役目を担っていると推察されている。レクチンは、多価の結合部位をもつ糖鎖結合タンパクであり、広く病原体を認識し、凝集させ、オプソニン化(微生物などの抗原に抗体や補体が結合することにより抗原が食細胞に取り込まれやすくなる現象。食細胞に結合して食作用を受けやすくする血清因子をオプソニンと呼ぶ。)することにより、自然免疫の生体防御に働いている(遠藤, 2011)。これまでに、我々はネギ類の転写産物データベース(AlliumTBD: <https://alliumtdb.kazusa.or.jp/>)を構築しているが、その中にマンノース結合型レクチン(Mannose-specific lectin 2)をコードする部分長cDNA配列候補を3種類見出し、それらのうち2種類はタマネギの第5染色体の連鎖地図中の異なる2か所にマッピングされている。また、同染色体を添加したネギ単一異種染色体系統($2n=17$)はネギ正倍数体($2n=16$)と比べて二つの遺伝子の発現量が4~5倍高くなっていた。さらに、自然免疫細胞である好中球の生体防御機構を応用した食品機能性評価法(抗酸化・抗炎症・自然免疫賦活同時評価細胞試験)による検証の結果、第5染色体添加ネギ系統の免疫活性化作用は対象区と比較して約1.5倍増加していた。以上より、タマネギ第5染色体にヒト免疫活性化に関する原因遺伝子が存在することが示唆されている。また、同作用に関係する物質は粘液組織だけではなく、葉組織全体に含有されていることが示唆された。

近年、高温期の葉ネギ生産圃場では、葉身部の退色や葉先枯れによる品質の低下が問題視されている。そこで、盛夏時に濃緑色で健全な葉身部を数多く展開できる耐暑性品種が求められている。その様な要望を受け、山口県では独自の「耐暑性に優れた濃緑色葉ネギ品種」の開発に取り組み、下関市安岡地区で古くから栽培されてきた在来品種「横野ネギ」を用いて優良個体選抜を繰り返し、「YSG1号」(固定種)を育成した。本品種は、葉身色が極めて濃い極濃緑色品種であり、耐暑性を兼ね備えていることから、県内の生産現場では夏用葉ネギ品種として広く認知されている。山口大学において、この品種の葉身部の色素化合物の定性・定量分析したところ、クロロフィル、ネオキササンチン、ピオラキササンチンとルテインの含量が総じて高くなり、既存品種の1.5倍ほど緑色系色素化合物を含んでいた。また、文献情報を用いてピックアップした耐暑性関連化学成分(プロリン、グリシン、トリプトファン、GABA、フラボノイド類、カロテノイド類等)を分析したところ、酷暑期において、「YSG1号」は全ての含量が低く、それに呼応する形で耐暑性の指標である葉先枯れ程度も低かった。この様に、「YSG1号」は夏用葉ネギ品種として非常に優れた農業形質を併せもっていた。さらに、本品種の葉身部抽出物を用いて上記食品機能性評価法による試験を実施したところ、特定濃度で比較的高い免疫活性化作用がみられた。

三重大学(名田和義教授)の研究グループは、耐暑性を熱ストレス耐性として捉え、そのメカニズム解明に取り組んでいる。炭酸固定に利用できない過剰光エネルギーは同消散系によって熱や蛍光として放散され、光化学系の損傷を回避することが一般に知られている。名田研究室では、これまでにキュウリ、トウガラシとナスの熱ストレス耐性について研究を行い、光合成は40°C以上で低下し、熱ストレス耐性の獲得には同消散系であるキサントフィルサイクルによる熱放散が十分に機能することを明らかにしている。キサントフィルサイクルとは、強光下で光化学系II(PSII)が過剰な光エネルギーを捕捉したときに、光を熱として放出し、光阻害を防ぐ機構である。ネギは中国西部原産で、生育適温が15~20°Cとされているが、我国の西南暖地夏季栽培時には栽培施設内の気温が40°C以上になることが多々ある。そこで、予備試験として夏どり型で安定した収量を確保している数品種を用い、熱ストレス反応の多寡を比較検討した。その結果、葉ネギ夏どり品種「かみなり」において、40°C台後半の温度におかれた状態でも光合成の光エネルギー分配を構成する全てのパラメーターを高い水準で維持し、熱ストレスを一切受けないことがわかった。そこで、本品種を「熱ストレス耐性品種」とすることができ、幾つかの「熱ストレス感受性品種」と併せてメカニズム解明に利用できる品種セットを構築することができた。

以上で述べた通り、葉ネギのヒトに対する機能性や植物側のストレス耐性は漸く発現メカニズムが理解され始めたが、「葉身部濃緑色性」、「自然免疫活性化」や「耐暑性(熱ストレス耐性)」の遺伝のメカニズムは明確化されていない。これらの三つ特性の遺伝機構解明が本研究課題の核心をなす学術的「問い」を導き、これらに対して明確に回答するために、ネギ類オミックス研究と品種改良研究の融合を図り、出口戦略を明確化しつつ社会実装を視野に入れた研究開発プロジェクトを実施する。

2. 研究の目的

三つの特性の分子メカニズムの解明を目指す研究テーマ「問い」を以下のように設定した。

問1「葉身部濃緑化の遺伝系解明」：テーマ1-1：「濃緑色個体と淡緑色個体間の交雑集団を用いた連鎖地図の構築（両親とBC1個体等を用いてRNA-seqによるSequencing-based genotypingを実施）」、テーマ1-2：「葉色関連形質のQTL解析（SPAD値、色彩色差計値とクロロフィル・カロテノイド類含量の測定を実施）」、研究テーマ1-3：「メタボロームQTL解析（約150種類の代謝産物をLC-QqQ-MSによる超高感度メタボローム解析により網羅的に分析）」

問2「自然免疫活性化に関与する遺伝子群の解明」：テーマ2-1：「ネギ（'九条細'）におけるマンノース結合型レクチン（MBL）完全長ホモログ配列の取得と連鎖地図へのマッピング（Iso-seqによる完全長遺伝子配列の網羅解析とSNPマーカーによるマッピング）」、テーマ2-2：「葉ネギ品種におけるマンノース結合型レクチンタンパクの発現量比較（ノーザン解析による品種間発現量比較）」、テーマ2-3「食品機能性評価法による葉ネギ品種の評価（抗酸化・抗炎症・自然免疫賦活同時評価細胞試験による検証）」

問3「高機能性をもつ耐暑性葉ネギ品種の研究開発」：テーマ3-1：「熱ストレス耐性・感受性品種と山口県育成耐暑性品種の耐暑性検定（挟式温水循環処理による熱ストレス耐性の評価）」、テーマ3-2：「葉ネギ各品種の耐暑性に関与する葉身部化学内容成分の分析（アミノ酸、フラボノイド類とカロテノイド類の定性・定量分析）」、テーマ3-3：「葉ネギ各品種のメタボローム解析（上記と同様な超高感度メタボローム解析）」

さらに、総合テーマとして、テーマ4-1「オミックス統合解析（既存の翻訳領域とゲノム解析結果をメタボローム解析データと統合解析）」およびテーマ4-2「ネギ類ゲノム・オミックスパネルの構築（既存の転写産物データベース AlliumTBD: <http://alliumtbd.kazusa.or.jp> にゲノムやメタボロームの情報とともに拡充し、新規統合DBとして再構築）」を追加する。

3. 研究の方法

国内の4ヶ所の研究機関の協力を得ながら、山口大学の研究代表者が事業全体のコーディネーターを行う。研究代表者、5名の研究分担者および1名の研究協力者から構成されるチームにより、化学成分分析、細胞を用いた生理実験、オミックス解析、栽培実験等を実施し、最終的に統合データベースの構築を行う。一連の研究成果を基にして成果の社会実装も見据え、ターゲット化合物を決定した後、機能性表示農作物や食品に関わる事業化を考えており、山口大産学公連携・研究推進センターや山口農試企画情報室の協力を得ながら実現に向けた努力をしたい。本プロジェクトの構成員は、ネギ類野菜の栽培、化学実験、細胞生理試験および各種網羅解析に関する研究に精通した専門家である。また、具体的な研究計画の実施スケジュールを下記の「研究計画に関する里程標（図1）」にまとめて示す。

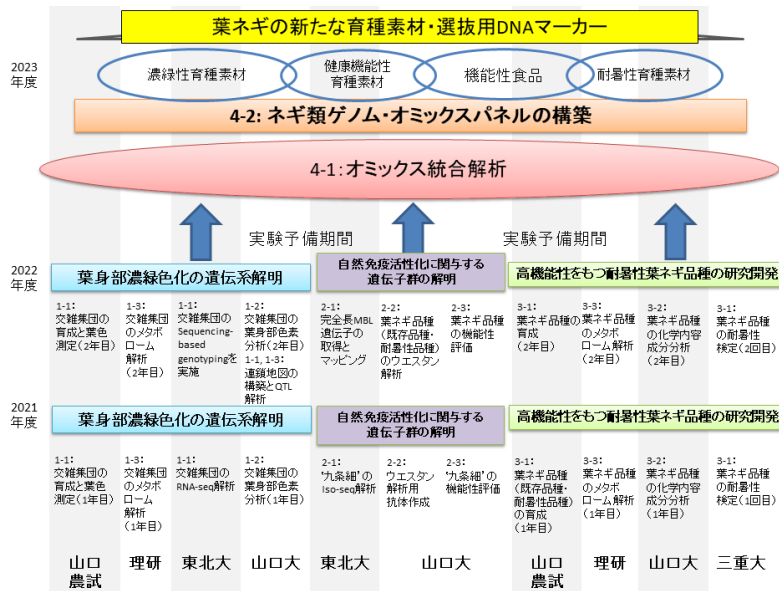


図1. 研究計画に関する里程標

4. 研究成果

問1「葉身部濃緑化の遺伝系解明」

濃緑色個体と淡緑色個体間の交雑集団を用いた連鎖地図の構築に関しては、先ず、市販品種'浅黄系九条'(P₁, ♀)と極濃緑色性を示す山口県オリジナル品種'YSG1号'(P₂, ♂)とともに、それらを交雑したF₁およびF₂集団を用いた。これらの種子を山口県農林総合技術センター(農業試験場)のガラス温室内で2021年5月中旬に播種し、7月中旬に収穫した葉身部を実験に供試した。これらの供試材料の分光特性(SPAD値、a*, b*とL*値)と化学内容成分含量(クロロフィルa, クロロフィルb, β-カロテンとルテイン)に関する数値データをそれぞれ収集し、各種表現型値として整理した。次に、両親系統各1個体とF₂集団68個体を用いてRNAシーケンス(RNA-Seq)を行い、得られたcDNA配列に基づくジェノタイピング(Genotyping by Sequencing)

を実施した。さらに、両親系統間の DNA 多型情報から作成した SNP マーカーの F₂ 集団における遺伝分離の情報を収集して連鎖地図を構築し、表現型値と地図情報を用いて葉身色に関連する各種 QTL のマッピングを実施した。‘浅黄系九条’、‘YSG1 号’、F₁ と F₂ の平均 SPAD 値はそれぞれ 31.7 (n=10)、44.9 (10)、37.1 (10) および 39.3 (68) となり、極濃緑色性を示す‘YSG1 号’は‘浅黄系九条’と比べて有意に高い値 (t=-14.4, p<0.01) を示した。また、F₂ 集団の SPAD 値で作成したヒストグラムは正規分布を示し、広義の遺伝率も 0.79 と高くなった。これらの結果より、SPAD 値に係わる遺伝子座は複数あることが示唆された。次に、SNP マーカーの連鎖解析により、総計 1513 マーカーからなる総長 5407.7cM の 8 連鎖群が得られ、各染色体に対応する遺伝地図が構築された。さらに、SPAD 値に関する QTL マッピングより、LOD 値 5 以上のピークを示す QTL が第 1 染色体を除く複数の染色体で検出された。LOD 値 5 以上を示した QTL ピーク近傍の SNP マーカーの中に、ブラシノステロイド受容体、クロロフィル分解やワックス生合成に係わる遺伝子がそれぞれ確認された。これらの発現遺伝子領域内の SNP のアレルに着目して F₂ 集団をグループ分けすると、クロロフィル分解、ワックス生合成遺伝子領域を除く 2 種類の SNP マーカーにおいて‘YSG1 号’由来のアレルをホモ接合で持つグループの平均 SPAD 値が‘浅黄系九条’由来アレルのホモ接合体グループの平均値よりそれぞれ有意 (p<0.05) に増加していた。以上より、ブラシノステロイド受容体等に係わる遺伝子群が葉身濃緑色性に関与している可能性が示唆された。

また、別のネギ F₂ 集団 (‘奴’: 淡緑色品種×‘YSG1 号’: 濃緑色品種) 40 個体の約 75 万種類の SNPs と表現型値 (SPAD 値、クロロフィル a 含量等) のデータセットを整備して GWAS に供試した。その結果、SPAD 値の GWAS で得られたマンハッタンプロット上では、有意に高い 5 以上の -log₁₀(p) 値を示す三つの SNPs が検出された。また、クロロフィル a 含量に関する GWAS では、有意に高い -log₁₀(p) 値を示すものを含む複数の同一ハプロタイプ中にある SNPs が第 2 染色体のマンハッタンプロットで検出されたので、表現型値の変異を制御する原因遺伝子の特定を試みた。ピーク値を示した SNP の前後の約 2k の配列を取得し、全 4k に渡るネギゲノムの構造解析を行った結果、オープンリーディングフレーム配列 (210b) が検出され、同配列はイネのヒートショックプロテイン部分長配列と 76% の相同性を示した。

問 2 「自然免疫活性化に関与する遺伝子群の解明」

自然免疫活性化に関しては、マンノース結合型レクチン完全長ホモログ配列を 5 種類獲得し、それらのネギゲノム配列上の位置を第 4、5 および 7 染色体上にそれぞれ特定した。また、これらの遺伝子発現をネギ - シャロット単一異種染色体添加系統の偽鱗茎部において確認したところ、概ね当該遺伝子が座乗するシャロット染色体が添加された系統において他より発現量が多かった。

問 3 「高機能性をもつ耐暑性葉ネギ品種の研究開発」

耐暑性検定については、供試品種として、‘ふくいち葱’、‘夏彦ねぎ’、‘ブラックキング’ (以上中原採種場 (株))、‘浅黄九条’ ((株) タカヤマシード) および山口県農林総合技術センターで交配された品種‘山交 02’、‘山交 03’、‘YSG1 号’を用いた。パーミキュライトに播種し、約 2 カ月間の育苗後、1/2 倍濃度ホーランド液で約 1 カ月間水耕栽培した。葉の熱ストレス処理は、ネギの完全展開葉 1 枚を PPFD 90 μmol m⁻² s⁻¹ の光照明下で温水に 10 分間浸漬して行った。温水温度は 25、40、45 および 47°C に設定した。クロロフィル蛍光測定器 (JUNIOR-PAM、WALZ 社、ドイツ) を用いて、PSII 最大量子収率 (F_v/F_m)、PSII 有効量子収率 (ΦPSII)、キサントフィルサイクル依存熱放散比率 (ΦNPQ)、蛍光・定常熱放散への分配比率 (Φ_f、D) およびチラコイド膜損傷を示す F₀/F_m を求めた。主成分分析は Python の scikit-learn ライブラリで実施した。ネギの根を 50°C の温水に 1、2 および 3 時間浸漬した後、根 5g を採取し、NR 活性を測定した。光合成パラメーターの主成分分析の結果より、PC1 において、25°C では全ての品種が負の領域に位置した。45°C では‘ブラックキング’、‘山交 02’、‘山交 03’が正の領域に位置し、その他品種は負の領域に位置した。F_v/F_m は負の因子負荷量を示し、ストレス指標の F₀/F_m は正の因子負荷量を示した。このことから、光合成において‘ブラックキング’、‘山交 02’、‘山交 03’は熱感受性品種であり、その他の 4 品種は熱ストレス耐性を有していると考えられる。根の NR 活性は、熱ストレス処理により‘浅黄九条’、‘山交 02’が大きく低下した一方で、その他 5 品種では有意差はなかった。以上より根域活性では、‘夏彦ねぎ’、‘ブラックキング’、‘ふくいち葱’、‘山交 03’、‘YSG1 号’は熱ストレス耐性を有していると考えられる。これらのことから、‘夏彦ねぎ’、‘ふくいち葱’、‘YSG1 号’は葉と根の両者に熱ストレス耐性を有していると考えられる。

次に、5 月上旬 ~ 7 月上旬に播種し、一定期間栽培した後の 7 月中旬 ~ 9 月中旬にそれぞれ収穫した山口県育成 F₁ 系統 (‘山交 01’、‘山交 02’、‘山交 03’、‘山交 04’、‘山交 05’、‘中山交’)、固定種 ‘YSG1 号’ および既存 F₁ 品種 (‘夏彦’、‘かみなり’) の葉身部を用いた。葉色に関しては、葉緑素計を用いて SPAD 値を、分光色差計で明度 (L*) と色度 (a*, b*) をそれぞれ測定するとともに、HPLC を用いてクロロフィルとカロテノイド類 (ルテイン、カロテン、ピオラキサントニン、ネオキサントニン) に関する定性・定量分析を実施して総合的に評価した。生理障害に関しては、画像解析ソフト LIA32 の教師付分類機能を用いて健全部と葉先枯れ部分に分け、該当ピクセル数をカウントすることで植物体に占める葉先枯れ部の割合を算出した。また、耐暑性の指標となるアミノ酸 (アラニン、グリシン、GABA、バリン、プロリン) 総フェノール、フラボノイドおよびフルクタン含量と葉先枯れ発生程度の関連解析を各種統計手法により行った。葉身色の色度 (a*, b*) をみると、‘中山交’を除く山口県育成 F₁ 系統および ‘YSG1 号’

の b^* 値が低く、これらでは黄系の色相が薄く、緑色が引き立つ傾向がみられた。また、化学内容成分の分析より、明らかに濃い葉身色をもつ系統ではクロロフィルとカロテノイド類の含量も総じて高くなり、多くの化合物と b^* 値の間で負の相関が確認された。特に、‘山交 01’、‘山交 03’ および ‘YSG1 号’ は葉身部に上記色素化合物が多く蓄積しており、これらは葉身濃緑色に関与する主要因子であることが示唆された。さらに、耐暑性に関わると推察される各種化学内容成分の含量を 6 月播種 9 月収穫分および 7 月播種 9 月収穫分について測定し、葉先枯れ割合の数値とともに単回帰分析を行った。その結果、総フェノールとフラボノイドにおいて、葉先枯れ割合との間でそれぞれ低いながら負の相関 ($r=-0.333$, $r=-0.263$) がみられ、これらは同障害のケミカルマーカーとなる可能性が示された。本研究より、山口県育成 F_1 系統の中で、‘山交 03’ は葉身部葉先枯れの発生が少ないことに加え、色素化合物の含量が高く、これまでにない画期的な耐暑性・濃緑色 F_1 系統であることが判明した。今後、‘山交 03’ の種子を増産して県内産地への普及を図ることが期待される。

さらに、既存 F_1 品種・固定種や濃緑色を有する系統を掛け合わせて得られた山口県育成 F_1 系統を用いて灰緑色を呈するフェオフィチン a の定性・定量を行い、多様な葉身色を呈する品種・系統間における比較解析を行った。また、葉ネギ葉身色の精密評価法では、葉身部から色素化合物を抽出して化学分析する必要があり、多大な手間と時間を要していた。そこで、葉身部の可視光反射特性に着目し、各色素化合物の含量を簡易非破壊かつ精度よく予測する手法の開発を試みた。植物材料として、既存 F_1 品種 (‘夏彦’、‘かみなり’、‘やまひこ’)、固定種 (‘YSG1 号’、‘08S20-2’) と山口県育成 F_1 系統 (‘2331’、‘山交 03’) を用いた。これらの種子を山口県農林総合技術センター (農業試験場) のガラス温室内で 2023 年 6 月 14 日に播種した後、同年 8 月 21 日に収穫して葉身部を以下の実験に供試した。クロロフィル a・b とフェオフィチン a は蛍光検出器付 HPLC により、 β -カロテンとルテインはフォトダイオードアレイ検出器付 HPLC によりそれぞれ定量を行った。また、達観値に加え、葉身色非破壊評価を葉緑素計の SPAD 値ならびに分光色差計の各種測定値 [明度 (L^*)、色度 (a^* 、 b^*)、分光反射率 (400~700nm 間を 20nm 毎に測定)] を用いて実施した。化学内容成分含量の予測については、各品種・系統において得られた各色素化合物含量と各種非破壊測定データを用いて主成分分析および重回帰分析を実施した。フェオフィチン a 含量は、品種間で有意差がみられ [$F(6, 25) = 6.65$, $p < 0.01$], ‘YSG1 号’ が最も高い値 (9.18 ± 1.52 mg/100gFW; $n=4$) を示した。フェオフィチン a 含量と SPAD 値間の相関係数 (r) は 0.572 となり中程度の正の相関を示した。次に、5 種類の色素化合物含量の総量を品種・系統間で比較すると、濃緑色を呈する固定種 ‘08S20-2’ が最も多く蓄積しており、さらに、同総量と SPAD 値の間には強い正の相関 ($r=0.92$) がみられた。総クロロフィル含量と SPAD 値の間にも強い正の相関 ($r=0.92$) がみられたので、SPAD 値を用いて葉ネギ葉身部における緑色の量的ならびに質的評価を実施できることが示唆された。一方で、濃緑色性の達観評価値と SPAD 値には差がみられ、葉緑素計だけでは濃緑色性を正確に判断できないと考えられた。そこで、分光色差計で詳細な測色データを取得し、各品種・系統における主成分分析や各色素化合物含量値を従属変数に用いた重回帰分析を行った。その結果、本研究で用いた葉ネギ品種・系統の葉身色を「明るく鮮やかな緑色」、「暗い緑色」と「くすんだ緑色」に類型化できた。また、総クロロフィルと β -カロテンでは、重回帰分析における決定係数 (前者: $R^2=0.92$ 、後者: $R^2=0.74$ 、ともに >0.5) と重相関係数 ($R=0.97$ 、 0.90 、ともに >0.7) がともに高くなり、高精度な予測モデルが成立した。今回、予測式の精度が不十分であったフェオフィチン a に関しては、化学分析の結果も参照しながらモデル補正をしていく必要がある。また、ルテインに関しては、今回適用した非破壊評価系で含量予測のモデルを構築することは不可能であり、測定波長域を 380~780nm まで取得できる分光放射計を用いて分光反射率を取得していく予定である。

問 1~3 のまとめ課題「オミックス統合解析」

トリプル四重極型質量分析計 (LCMS-8050: SHIMADZU) を用いたメタボローム解析では、ネギ属植物の 452 種の一次・二次代謝産物を対象とした網羅解析を実施した。解析対象とした植物材料には、葉ネギの栽培種、 F_1 品種・系統ならびに F_2 集団を用いた。葉ネギの栽培種と F_1 品種・系統のメタボローム解析から得られたビッグデータは MetaboAnalystR を用いた生物情報解析に供試した。その結果、前処理から統計解析、多変量解析、パスウェイ解析、視覚化まで、幅広い分析ステップを含むことで、代謝産物データの理解と生物学的解釈を深めることができた。また、従属変数として画像解析から得られた葉先枯れ程度に関する表現型値を供試し、232 種類の代謝物データを説明変数とした重回帰分析を行った結果、16 種類の代謝物の相対定量データによって精度の高い重回帰式が得られた (決定係数 $R^2=0.86$)。今後、この代謝産物の相対定量値による葉先枯れ程度の予測モデルが栽培時期の異なる品種・系統にも提供できるか見極める必要がある。さらに、2 種類の F_2 集団 (‘浅黄系九条’ \times ‘YSG1 号’、‘奴’ \times ‘YSG1 号’) において、メタボロームベースの GWAS を行って 126 種類および 114 種類のマンハッタンプロットを作成することができた。これらの中から濃緑色性等のターゲット形質の発現に関与する代謝物を選抜することができれば、新たな原因遺伝子探索ツールと成り得る。また、今回の事業で大量の転写産物データを取得しており、eGWAS 解析も実施可能である。一連の発現遺伝子の情報は前出のデータベース AlliumTBD への新規格納を完了しており、情報基盤の整備も行うことができた。以上より、様々な情報基盤の整備を行うことができた訳だが、それに加え、新たな葉ネギ品種の育成に資する育種素材も開発できたので、今後の進展も期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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 中島徹也, 中田怜奈, 下見悠輔, 藤井宏栄, 妻鹿良亮, 渡邊健司, 水上洋一, 平川英樹, 佐藤修正, 執行正義
2. 発表標題 ネギの葉色に関する遺伝分析
3. 学会等名 第14回中国地域育種談話会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 中島徹也, 中田怜奈, 下見悠輔, 藤井宏栄, 渡邊健司, 水上洋一, 番場大, 佐藤修正, 執行正義
2. 発表標題 QTL解析による葉ネギ濃緑色性に関する染色体領域と候補遺伝子の推定
3. 学会等名 園芸学会令和4年度秋季大会
4. 発表年 2023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	名田 和義 (NADA KAZUYOSHI) (40293807)	三重大学・生物資源学研究所・教授 (14101)	
研究分担者	藤井 宏栄 (FUJII KOUEI) (50505196)	山口県農林総合技術センター・農業技術部 園芸作物研究室・ 専門研究員 (85503)	

6. 研究組織（つづき）

	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	佐藤 修正 (SATO SHUSEI) (70370921)	東北大学・生命科学研究所・教授 (11301)	
研究分担者	妻鹿 良亮 (MEGA RYOSUKE) (80738526)	山口大学・大学院創成科学研究科 ・助教（テニュアトラック） (15501)	
研究分担者	平井 優美 (HIRAI MASAMI) (90415274)	国立研究開発法人理化学研究所・環境資源科学研究センター・チームリーダー (82401)	

	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
研究協力者	平川 英樹 (HIRAKAWA HIDEKI)		

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