

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 2 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24501059

研究課題名(和文) 遺伝学教育に最適化した生物材料の開発

研究課題名(英文) Development of biological materials optimized for genetics experiments

研究代表者

仁田坂 英二 (NITASAKA, EIJI)

九州大学・理学(系)研究科(研究院)・講師

研究者番号：60222189

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：ゲノム科学の進展等により遺伝学教育の重要性は増しているにも関わらず、初等～中等教育の授業において遺伝学の実験を行うには時間がかかるため困難であった。例えば、ショウジョウバエのような世代時間の短い生物を用いても、F2世代を観察するまで1ヶ月程度要してしまう。本研究ではアサガオを材料として、子葉の段階で鑑別できる様々な変異形質をヘテロ接合で持つ系統を育成し、播種後1週間程度で様々な遺伝の実験を行うことを可能にした。これらの系統には、3性雑種までのメンデル遺伝はもとより、連鎖している形質を用いた組換え率の計算や遺伝子の相互作用を仮定する様々な遺伝様式の検証に使える系統も揃っている。

研究成果の概要(英文)：In the biology field of the second education, genetics has become more important along with development of genome sciences. However, it is very difficult to incorporate genetics experiments into general lectures because of its time-consuming process. For example, even *Drosophila* takes one month to observe F2 generation, although *Drosophila* has relative short life span. In this study, I developed a series of morning glory strains carrying recessive mutations as heterozygous states. Mutations of these strains show phenotypes of cotyledon shapes, colors and size, therefore, genetics experiments using these strains can be completed within one week. These morning glory strains can be applied for various genetics experiments as follows: simple Mendelian experiments, double and triple hybrids, linkage and calculation of recombination rate, exceptional segregation rates accounting for genetic interactions.

研究分野：遺伝学

キーワード：メンデル アサガオ 遺伝学 遺伝 組換え

1. 研究開始当初の背景

生物科学の多くの分野が近年の分子生物学の発展に伴う様々な知見の蓄積により当初の概念の修正を余儀なくされている。一方、遺伝学はメンデルの法則の再発見(1900年)から1世紀以上経過しているが、遺伝子の構造や働きが明らかになった現在でも基本的な概念の変更はない。これは、メンデルによって先鞭が付けられた遺伝学では、当初よりDNAの塩基の違い等に起因する突然変異体、つまり最小単位である遺伝子を取り扱ってきたからである。また、遺伝子の頻度を元にモデル化して進化を研究する集団遺伝学の理論も揺るぎないものがあるが、これも遺伝子を直接取り扱っているからである。

このように、遺伝学は生物学の中の基幹をなす学問分野であり、他の物理学や化学等の自然科学分野に比類する論理性を備えている。今後のゲノム科学の進展によって得られ、普遍化するであろう個人のゲノム情報についての理解まで考慮すると、生物学教育に占める遺伝学教育の重要性が今以上に増すのは間違いない。

一方、中等教育(中学・高校)における遺伝学では、実際の生物を観察することはなく、机上のみで教育が行われており、メンデルの法則や、特殊な分離比を解釈するための遺伝等、法則や名称の丸暗記で無味乾燥な教育が行われているのが実情である。

この理由は明確で、他の生物分野と比べ、遺伝学の実験を教育に取り入れるには時間がかかりすぎるためである。例えば、遺伝学における伝統的な研究材料であるキイロショウジョウバエですら、卵から成虫までの世代時間は約10日と短いものであるが、親世代から雑種第2代(F₂世代)まで見るには優に1ヶ月を要してしまう。飼育にも特殊な餌を用意する必要があり、通年で維持することは困難である。また、メンデルが実験に用いたエンドウは秋に播種して翌春に開花・結実するため、1世代は優に半年を超えてしまう。ただし、植物はこのように世代時間が長いという短所はあるが、材料(種子)の保存性は良好で、

教育現場で恒久的に保存できるという優れた特徴がある。

申請者は日本の遺伝資源を収集・保存し、研究者に提供するプロジェクトである、文部科学省のナショナルバイオリソースプロジェクト(NBRP)の代表機関の代表を務めており、1500系統以上のアサガオの突然変異系統や近縁種を保存しており、世界最大のアサガオ類のストックセンターとしても機能している。また、アサガオは初等教育でほとんどの生徒が栽培することや、中等教育で遺伝の例(中間遺伝、複対立遺伝等)として出てくることから教育目的のアサガオ系統を提供することも多々あり、教科書の副読本(図版等)にアサガオの変異体の画像の提供も行ってきた。その過程で多くの教育者から、遺伝学の教育の重要性が増し、教育する機会も増えているが、時間がかかるため実験を行うことができないという相談を受けてきた。

そのため、子葉の段階で区別できる形質を組み合わせたアサガオ系統を作成し、提供を行っている。アサガオは自動的に自家受粉する機構をもっているため、各形質をヘテロ接合で持つ親株から採種し、播種するだけで、毎世代メンデルの独立の法則等を播種後1週間以内に確認することができる。この系統は本年のNHK教育放送(高校生物)の中でも使用されている。

これらのことや、大学において遺伝学の実習を長年担当してきたことからヒントを得て、様々な遺伝の実験に対応できる実験系統のセットを作製し、初等から中等、場合によっては大学における高等教育の遺伝学の実験材料を整備し、教育機関へ提供することを着想するに至った。

2. 研究の目的

遺伝学の実験に用いられる材料として、大きく分けて動物材料と植物材料が挙げられる。前者は、世代時間は比較的短いものが多いが、餌や飼育施設が特殊かつ細かな管理が必要で、通年維持することが困難なものが多い。そのため、実験をするたびに材料を研究機関や業者から購入する必要があり、各教育機関での継続的

な利用は望めない。後者は、世代時間はかかるが、栽培管理や資材の入手は容易であり、種子の保存性も高いため、各教育機関で恒久的に実験を行うことができる。

比較的世代時間の短い動物でも、通常のスケジュールでは交配してF₂世代まで観察することはほぼ不可能であるが、植物では世代時間がかかるデメリットは、交配済み、つまり突然変異形質をヘテロ接合の状態を持つ株を用いることで解消できる。自家受粉する性質を備えた材料を使えば、ヘテロ接合の状態で維持することは容易である。また、子葉の段階で観察できる形質を選べば実験にかかる時間を大幅に短縮することができる。以上のような理由から、中等教育等における遺伝学の実験材料には植物が適しており、中でも自家受粉によって結実し、突然変異形質が豊富で、教育機関に応じた栽培形態を選ぶことができる2種、アサガオとシロイヌナズナに焦点を絞って研究を行う。

アサガオは日本独自の遺伝学研究の材料として1世紀に渡って用いられてきた経緯があり、花や葉の色や模様、形態に関する多種多様な変異体が保存されている。また、申請者はNBRP「アサガオ」の代表としての業務も行っているため、ほとんどのアサガオの変異体や冬期も栽培可能な栽培施設を保有するため、自在に交配育種を行うことができる。また、これらの色や形態変異の原因遺伝子の構造の多くは明らかになっているため、PCR反応を利用した遺伝子型の同定により、系統の開発をスピードアップすることができる。本研究のアウトプットとなる遺伝学実験用の系統は、教育現場において実験にかかる時間を短縮するため、子葉の段階で形質が区別できることを基本とし、時間的余裕があれば、その後育成し、葉や花でも形質を確認できるような系統が望ましいと考えている。

3. 研究の方法

1)メンデルの基本法則を理解するためのアサガオ系統の育成

アサガオでは子葉の段階で形や色の形質の

表れる劣性変異体が多く保存されている。そのため、これらを交配によって組み合わせ、播種後すぐ(1週間以内)にメンデル則を確認することができる系統群を育成する。また、系統の育成にあたって、DNA抽出、PCR法によってヘテロ接合の状態を遺伝子型を同定することで、迅速な育種を行う。

アサガオは自動的に自家受粉する機構を有しているため、開放状態で栽培しても採種した種子のほとんどは自家受粉によるものである。そのため、これらの突然変異形質を全てヘテロ接合の状態に維持すれば毎回交配しなくて済み、各教育機関で実験用の種子を継続的に用意することが可能である。ヘテロ接合で持つ劣性形質は採種した種子の一部を事前に播種することで、その存在を容易に確認することができ、目的とする形質を保持している株由来の種子のみ残していくことで維持する。

2)特殊な遺伝現象を説明するためのアサガオ系統の育成

中間遺伝、複対立遺伝、補足遺伝等、遺伝学では、基本的なメンデルの法則に従わないように見える遺伝子様式についても、遺伝子の相互作用を仮定して、その分離比を解釈している。ただし、現在の分子遺伝学から見て誤った解釈も見られるため、実際の遺伝子の働きに即した説明が必要となる事例もある。アサガオにはこのような特殊な遺伝様式を説明できる変異体がそろっており、これらを組み合わせ、簡単な実験で現象を確認できるような系統群の育成を行う。

3)組換え現象を説明するためのアサガオ系統の育成

アサガオには子葉で形質の表れる、複数の連鎖した形質が知られており、これらを組み合わせ、短い期間で連鎖現象を理解させるための系統を育成する。

4. 研究成果

本課題では遺伝学教育に簡便、短期間で用いることができる以下のようなアサガオの系

系統を育成、選抜した。

1) メンデルの基本法則を理解するためのアサガオ系統の育成

アサガオでは子葉の段階で形や色の形質の表れる劣性変異体が多く保存されている。アサガオは自動的に自家受粉する機構を有しているため、開放状態で栽培しても採種した種子のほとんどは自家受粉によるものである。そのため、これらの変異形質を全てヘテロ接合の状態に維持すれば毎回交配しなくて済み、各教育機関で実験用の種子を継続的に用意することが可能である。ヘテロ接合で持つ劣性形質は採種した種子の一部を事前に播種することで、その存在を容易に確認することができ、目的とする形質を保持している株由来の種子のみ残していくことで維持する。子葉の形質が異なる変異体を交配によって組み合わせ、播種後すぐ(1週間以内)にメンデル則を確認することができる系統群を育成した。子葉の形に関しては立田(m)、柳(m-w)、細柳(m-n)、獅子(fe)、州浜(re)、燕(mi)、渦(ct)、桔梗渦(str)、新規の鼻葉様変異(srl)、子葉の色に関しては、黄葉(y)、白子(al)、斑入(v)、鮮黄色葉(ly)、子葉軸(胚軸)の色では、暗紅(mg)、柿(dy)、淡色(lt)等である。これらの変異を単独で維持しているものや、形、色、軸のように観察する上で重ならない形質2つないしは、3つについてヘテロで持っている系統を複数育成した。例えば、3性の系統については、鼻葉様、白子、柳や、獅子、立田、燕(牡丹まで入れると4性)を持つ系統があり、27/64: 9/64: 9/64: 9/64: 3/64: 3/64: 3/64: 1/64の分離比を子葉の色と形(前者)、子葉の形の組み合わせで見ることができる。

2) 特殊な遺伝現象を説明するためのアサガオ系統の育成

遺伝学では、基本的なメンデルの法則に従わないように見える遺伝子様式についても、

遺伝子の相互作用を仮定して、その分離比を解釈している。ただし、現在の分子遺伝学から見て誤った解釈も見られるため、実際の遺伝子の働きに即した説明が必要となる事例もある。アサガオにはこのような特殊な遺伝様式を説明できる変異体がそろっており、これらを組み合わせて、簡単な実験で現象を確認できるような系統群の育成を行った。

- ・中間遺伝(不完全優性)を確かめるための系統として、アサガオの丸葉(co)、獅子(fe)、マルバアサガオの白花について、ヘテロ接合で保持している系統を育成した。丸葉と獅子に関しては、本葉の段階で確認できるため、播種後2週間程度で実験に使用できる。マルバアサガオの白花は、子葉軸の色でも鑑別できるが、中間調をきちんと見るためには花を見た方がよい。

- ・複対立遺伝の例として、立田(m)と柳(m-w)または細柳(m-n)捻梅(cd)と無弁花(cd-ps)、牡丹(dp)と八重咲(dp-pt)をそれぞれヘテロの状態に保持する系統を育成した。特に、立田と柳(細柳)の系統では子葉の段階で観察することができるため、播種後1週間以内に実験に用いることができる。

- ・致死遺伝; 1)に述べた白子(al)は光合成ができず発芽後早い段階で枯死するため、これを致死の例として用いる。

- ・補足遺伝による9:7の分離を確認する系統の育成。アサガオの複数の白花変異(a3, r1, r3, sp, ca)を2種類組み合わせた系統を育成した。花を観察する以前に胚軸の色でも鑑別できるため非常に簡便である。維持するには2種の白花変異を両方ヘテロ接合で持つ株の種子を選抜し続ける。

- ・同義遺伝 15:1 ; 表現型が野生型に近い獅子(fe)と打込(cm)等を組み合わせ、強い表現型の2重変異体が1/16の確率で生じる系統を育成した。子葉でもある程度鑑別できるが、本葉で見るのが確実である。

- ・条件遺伝 9:3:4 ; 1)で用いた系統で、黄

葉(y)と白子(al)のみに着目したり、暗紅(mg)と白花(r1 等)をヘテロで持つ系統を用いることで、子葉色・胚軸色で実験に利用できる。・遅滞遺伝、細胞質遺伝、キセニア(胚乳・胚の形質)については、実験に利用できる系統はまだ確立していないが、今後も調査、育成を続けていく。

3) 組換え現象を説明するためのアサガオ系統の育成

アサガオには複数の連鎖した形質が知られており、これらを組み合わせて、短い期間で連鎖現象を理解させることができる。組換え率を求めるための系統として、柳(m-w)と黄葉(y)、紫(pr)と石畳(cs)、斑入(v1)と褐色種子(br)を持つ、組換え率計算に使う系統を育成した。また、強固に連鎖しており、完全連鎖に近い現象を観察させるための系統として、黄葉(y)と柿(dy)をヘテロ接合で保持する系統が育成できた。中間遺伝の例にも用いる、丸葉(co)と獅子(fe)の両方をヘテロ接合で持つ系統も複数あり、これも連鎖、組換え率の計算に用いることができる(本葉の段階で観察)。他にも、南天(ac)と暗紅(mg)、鼻葉(sr)と白花(a3)、渦(ct)と覆輪(Mr)の連鎖を示す系統を育成中である。

4) 遺伝現象を説明するためのシロイヌナズナ系統の育成

シロイヌナズナで遺伝現象を調べるための系統として、花器官の形成に関わる、ag, pi, ap2、分裂組織の維持に関わる wus, clv1, clv3 等を 2 重ヘテロ接合に持つ系統を育成した。ただしこれらは花が咲くまで表現型の区別ができないので 1 ヶ月以上実験に要する。そのため播種後、子葉の色や形で鑑別できる系統として、各種斑入(var)、ch1(クロロフィル b を欠く)、wox1 と wox3 の 2 重変異体等について実験を行った。特に wox1 と wox3 の変異体については冗長性による同義遺伝の

材料として特に優れているが(野生型と細葉が 15:1 で子葉の段階で鑑別可)、遺伝子組換え株であり、自然突然変異によるアレルを利用しない限り教育用には利用できないので今後代替系統を探索する。

5) 植物材料の栽培方法の改善

アサガオは典型的な硬実種子であり、処理済みの市販の種子ではなく、自家採種した種子を実験に用いて、吸水・発芽させるためには刃物で傷を付ける、濃硫酸に浸潤する等、教育目的でも危険な処理が伴う。タキイ種苗が開発したレーザー光による硬実打破の技術を利用し、条件の検討をおこなった。系統による種皮の状態の違いに依存せず、簡便で迅速に処理できることが明らかになった。装置自体は高価であるが、教育用の提供種子を事前に処理することが可能になり、非常に有用であると思われる。

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 4 件)

Ishikuro H, Nitasaka E, Otani M (2014) An efficient plant regeneration through embryogenic callus formation and direct somatic embryogenesis via immature embryo culture in *Ipomoea purpurea* and *I. tricolor*. Plant Biotech. 31: 179-183. 査読有

Morita Y, Takagi K, Fukuchi-Mizutani M, Ishiguro K, Tanaka Y, Nitasaka E, Nakayama M, Saito N, Kagami T, Hoshino A, Iida S.(2014) A chalcone isomerase-like protein enhances flavonoid production and flower pigmentation. Plant J. 78: 294-304. 査読有

Ono M, Satomi Hiyama S, Yohei Higuchi Y, Kamada H, Nitasaka E, Koyama T, Mitsuda N, Ohme-Takagi M and Sage-Ono K (2013) Morphological changes in *Ipomoea nil* using chimeric repressors of Arabidopsis *TCP3* and *TCP5*. Plant biotech. 29: 457-463. 査読有

Ly T, Fukuoka H, Otaka A, Hoshino A, Iida S, Nitasaka E, Nobuyoshi Watanabe N, and Kuboyama T (2012) Development of EST-SSR markers of *Ipomoea nil*. Breed Sci. 62: 99-104.

査読有

(学会発表) (計 7 件)

宮本菜摘、仁田坂英二、アサガオにおけるトランスポゾン Tpn1 ファミリーの転移活性化機構、四学会合同沖縄大会、2014 年 5 月 25 日、琉球大学(沖縄県・中頭郡西原町)

古池優希、仁田坂英二、アサガオにおける向軸側形成に關与する POLYMORPHIC 遺伝子および BROWN 遺伝子の解析、四学会合同沖縄大会、2014 年 5 月 25 日、琉球大学(沖縄県・中頭郡西原町)

仁田坂英二、アサガオの歴史と変化咲き、公開フォーラム・新しい花を創る、2014 年 4 月 26 日、東京大学中島ホール(東京都・文京区)

仁田坂英二、トランスポゾンによって誘発された多様なアサガオの変異体、植物微生物研究交流会、2014 年 9 月 19 日、佐賀大学(佐賀県・佐賀市)

仁田坂英二、宇宙種子実験によって得られたアサガオの変異体、宇宙生物学会、2014 年 9 月 22 日、大阪府立大学(大阪府堺市)

仁田坂英二、アサガオの園芸化に關わるトランスポゾンの転移活性化機構、日本園芸学会、2014 年 9 月 27 日、佐賀大学(佐賀県・佐賀市)

星野敦、仁田坂英二、NBRP アサガオ; 薬用植物からモデル植物へ、日本分子生物学会、2014 年 11 月 25 日~27 日、パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市)

(図書) (計 3 件)

仁田坂英二、化学同人、変化朝顔図鑑、2014、112 ページ

渡邊弘春、仁田坂英二、ポプラ社、ぜんぶわかる! アサガオ、2015、68 ページ

仁田坂英二、誠文堂新光社、朝顔百科: アサガオの栽培・仕立て方から園芸文化まで、2012、232 ページ

(産業財産権)

出願状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
取得年月日:
国内外の別:

(その他)

ホームページ等

<http://mg.biology.kyushu-u.ac.jp/>

このウェブページ上では遺伝学教育に利用できる各種系統の画像を含む情報を公開している。本成果で得られた結果(系統・方法)も現在取り込んでおり、本年度中に公開する予定である。

一般向けの講演活動

国立歴史民俗博物館(千葉県佐倉市、2014/8/23)

京都府立植物園(京都市、2014/8/3)

九大の園場公開・観察会(福岡市、2014/9/6-8)

広島市植物公園(広島市、2014/9/23)

かずさDNA研究所開所記念講演会(木更津市、2014/10/4)

全国朝顔会(神奈川県・箱根町、2014/10/5):

6. 研究組織

(1) 研究代表者

仁田坂 英二(NITASAKA, Eiji)

九州大学大学院理学研究院生物科学部門

研究者番号: 60222189

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号: