# 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 元年 6月20日現在

機関番号: 82111

研究種目: 基盤研究(C)(一般)

研究期間: 2015~2018

課題番号: 15K07302

研究課題名(和文)ナシ果肉障害『みつ症』"激発系統"に特徴的な遺伝子群の検索とDNAマーカーの開発

研究課題名(英文)Transcriptome analysis of watercore in Pyrus pyrifolia by comparing pairs of susceptible and resistant F1 sibs

#### 研究代表者

西谷 千佳子 (NISHITANI, Chikako)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・果樹茶業研究部門・上級研究員

研究者番号:10370553

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文): ニホンナシの「みつ症」は、果実成熟の進行に伴い、果肉の褐変などが見られる生理障害で、関連遺伝子群の実態は不明である。また、年次によって発症の程度が異なる再現性の低さから、解析が困難である。そこで、申請者らが作出した「みつ症」感受性系統、非感受性系統の兄弟系統を2組用いることとした。これらの系統では、感受性の系統は毎年全ての果実に「みつ症」を発症する一方で、非感受性系統ではたとえ過熟となっても「みつ症」を発症しない。本研究では、それぞれの兄弟間での遺伝子発現を「みつ症」発症前の未成熟な果実からマイクロアレイで比較し、感受性系統に特徴的な遺伝子としてホルモン関連遺伝子群などを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義 ニホンナシ、リンゴなどのバラ科果樹の果肉は、しばしば『みつ症』と呼ばれる生理障害を発症する。これらは 同じ『みつ症』という名称であるが、症状は異なる。リンゴでは果肉が綺麗に透明化して食味良好であるため、 生理障害であるにも拘わらず"みつりんご"などと称され、市場価値は高い。一方、ナシでは果肉が水浸状にな り褐変化して食味が悪化し出荷不能となるため、一般市民が目にすることはまれである。本研究で見い出した遺 伝子群は、ナシでは『みつ症』発症の予測方法の開発や、『みつ症』を発症しない品種の育成に有用と考えられ る。

研究成果の概要(英文): Watercore is a physiological disorder of Japanese pear fruits, in which a watery translucent area appears in the flesh of fruits on the tree. The disorder leads to the loss of commercial value, and resistance to watercore is one of the most important features to be studied in the breeding of Japanese pear. By using susceptible sibs develops severe watercore in all the fruits examined in each year, whereas no watercore was found even in overmature fruits of resistant sibs. To search for genes related to watercore, we used a custom pear microarray and studied differential gene expression in susceptible and resistant sibs prior to visible watercore development. We identified 115 differentially expressed genes including hormone related genes.

研究分野: 品種育成

キーワード: ニホンナシ マイクロアレイ 生理障害 みつ症

## 様 式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19(共通)

## 1.研究開始当初の背景



図1 ニホンナシ主要品種「豊水」の『みつ症』

体もあるほどの深刻な生理障害である。このため、ナシでは『みつ症』発症の予測方法の 開発や、『みつ症』を発症しない品種の育成が急務となっている。

### 2.研究の目的

ニホンナシの『みつ症』は、果実成熟の進行に伴い果肉の褐変化などの症状を呈する生理障害で、多数の遺伝子が関与する難関形質とされるが、その遺伝子群の実体は不明である。本研究は、申請者らが作出した『みつ症』"激発系統"と"非発症系統"の兄弟系統二組で特徴的な発現様式を示す遺伝子群を網羅的解析で抽出し、『みつ症』発症のメカニズムを解析する。この知見を基に、『みつ症』発症の予測方法を開発するとともに栽培品種で使用可能な『みつ症』のDNAマーカーを開発する。

#### 3.研究の方法

本研究では、『みつ症』発症程度に極端な差異のある兄弟系統を二組用いて、"激発系統"で特徴的な発現様式をする遺伝子群をマイクロアレイ解析により抽出し、『みつ症』発症のメカニズムを解析するとともに、栽培品種での『みつ症』関連遺伝子の DNA マーカー化を目指す。

- (1)二組の兄弟系統でのマイクロアレイ実験による遺伝子発現比較をし、兄弟系統二組で、 "激発系統"に特有の発現様式を示す<共通の遺伝子群>の抽出を行う。
- (2-1) < 共通の遺伝子群 > について発現様式と機能の分類を行う。
- (2-2)『みつ症』発症程度に差異のある栽培品種群で<共通の遺伝子群>について遺伝子配列の多型を解析して DNA マーカー化する。

### 4. 研究成果

兄弟系統での遺伝子発現を「みつ症」発症前の未成熟な果実からマイクロアレイで比較し、感受性系統に特徴的な遺伝子発現を抽出し、二組の兄弟で共通の特徴を見出した(図2)。また、これらの系統の果実形質を詳細に解析した。2017年度までに感受性系統で高い発現を示す遺伝子を40、低い発現を示す遺伝子を75個見出した。これらの遺伝子群の中には、メタロチオネイン、インベルターゼ、ホルモン関連遺伝子群が含まれていた。2018年度は、リアルタイムPCRによるマイクロアレイ解析の結果の検証を完了させた。また、ナシゲノム情報を利用してこれらの遺伝子群の染色体上の位置の推定を行い、これらが特定の染色体上に座上していることが明らかとなった。

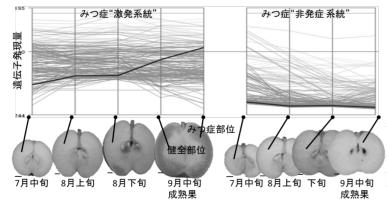


図2 兄弟系統Iを用いたマイクロアレイ解析の結果 (抜粋)

折れ線一本で一遺伝子である。成熟前(8月下旬)で両系統間に発現量に差異にある遺伝子群を抽出した。或る一遺伝子のみ太線で系統間の対応を示した。この遺伝子の場合は"激発系統"では成熟時に発現上昇するが"非発症系統"では発現上昇しないタイプの発現様式である。

#### 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計4件)

- 1 二ホンナシの果肉障害「みつ症」感受性系統に特徴的な遺伝子のマイクロアレイ解析 西谷千佳子 1・井上栄一 2・奈島賢児 1・尾形夏海 3・喜多晃一 3・郷内武 4・石井亮二 3・中村 幸乃 5・小林正明 5・矢野健太郎 5・山本俊哉 1 (1 農研機構果樹研,2 茨城大農学部,3 茨城農 総セ生工研,4 茨城農総セ園研,5 明治大学)平成 28 年度園芸学会春季大会
- 2 ナシ果実の'みつ症'発生機構に関する研究(第 6 報)'豊水' 染色体倍加個体 の果実 における高いみつ症感受性

<u>井上栄一</u> 1 ・ 八塚拓 1 ・ 野口尚美 1 ・ 尾形夏海 2 ・ <u>西谷千佳子</u> 4 ・喜多晃一 2 ・郷 内武 3 ・石井亮二 2 ・山本俊哉 4 ・ 東尾久雄 1(1 茨城大農学部 ・ 2 茨城農総セ生工研・ 3 茨城農総セ園研・ 4 農研機構果樹研)平成 28 年度園芸学会春季大会

- 3 ニホンナシ果実の'みつ症'発生機構に関する研究(第7報)倍数性の異なるニホンナシ ・豊水'の果実におけるみつ症の発症と成熟・糖代謝に関わる遺伝子の関係 八塚拓1・野口尚美1・尾形夏海2・喜多晃-2・郷内武3・石井亮二2・<u>西谷千佳子</u>4・山本俊 哉4・東尾久雄1・<u>井上栄-</u>1(1 茨城大農学部・2 茨城農総セ生工研・3 茨城農総セ園研・4 農 研機構果樹研)平成28年度会園芸学会春季大会
- 4 遺伝的背景の異なるニホンナシ品種間交雑におけるみつ症感受性の遺伝 尾形夏海 1・喜多晃一 1・郷内武 2・霞正一 3・石井亮二 1・(1 茨城農総セ生工研・2 茨城農総 セ園研・3 茨城県結城農改セ) 平成 28 年度園芸学会春季大会

[図書](計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称: 発明者: 権利者: 種類: 種号: 番願外の別:

取得状況(計0件)

名称: 発明者: 権利者: 種類: 番号: 取得年: 国内外の別:

〔その他〕 ホームページ等

6.研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名:井上 栄一 ローマ字氏名: Eiichi Inoue 所属研究機関名:茨城大学

部局名:農学部

職名:教授

研究者番号 (8桁): 90292482

(2)研究協力者

研究協力者氏名:尾形 夏海 ローマ字氏名:Natsumi Ogata

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。