

## 自己評価報告書

平成23年3月15日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究（A）

研究期間：2008～2012

課題番号：20248004

研究課題名（和文）バラ科サクラ属に特異な S-RNase 依存性配偶体型自家不和合性認識機構の解明

研究課題名（英文）Studies on the molecular basis of the S-RNase-based gametophytic self-incompatibility system in Prunus in the Rosaceae

研究代表者

田尾 龍太郎 (TAO RYUTARO)

京都大学・農学研究科・准教授

研究者番号：10211997

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学・園芸学造園学

キーワード：核果類, S-RNase, SFB, 共通因子, 自家和合性

## 1. 研究計画の概要

バラ科サクラ属果樹の多くは配偶体型自家不和合性を示し、このことが栽培や育種を行う上で大きな障壁となっている。我々は、サクラ属果樹における自家不和合性の分子機構を解明し、得られた知見を園芸・育種学的に利用しようとして研究を進めてきた。これまでに、雌ずい S 遺伝子の S-RNase を同定し、さらに DNA 分析による S 遺伝子型の判別法の開発にも成功している。また S-RNase の同定後は、花粉 S 遺伝子である S ハプロタイプ特異的 F-box タンパク質遺伝子 (SFB) のクローニングにも成功した。本研究は、申請者等が長年にわたって続けてきた、サクラ属の示す S-RNase 依存性配偶体型自家不和合性に関する研究をさらに発展させるために立案されたものであり、バラ科において未同定の自家不和合性共通因子の同定を試みるとともに、サクラ属の自家不和合性における自己非自己認識の分子機構の全体像を明らかにし、得られた知見を園芸・育種学的に利用しようとするものである。

## 2. 研究の進捗状況

## (1) SFB と相互作用するタンパク質の解析

F-box 遺伝子である SFB と相互作用して、SCF コンプレックスを作ると考えられる *skp1* および *cullin* を candidate gene approach によりクローニングした。これら遺伝子がコードするタンパク質間の相互作用を yeast two hybrid 法により確認した。またクローニングした遺伝子より組み換えタンパク質を作製し、immunoprecipitation 法や pulldown 法によって、因子間相互作用を確認した。

## (2) S-RNase と相互作用するタンパク質の

## 解析

不和合性共通因子であり、S-RNase と相互作用する花粉タンパク質を yeast two hybrid 法によりクローニングした。現在、immunoprecipitation 法により、このタンパク質と S-RNase が相互作用することを確認している。

## (3) 共通因子変異体の解析

共通因子が変異したために自家和合化していることが知られている甘果オウトウのクリストバリーナから、共通因子をポジショナルクローニングするために、ゲノム配列および発現配列の大量解析を行っている。また同時に、アンズにおける不和合性共通因子の解析も進めた。

## (4) 形質転換実験

バラ科サクラ属植物の形質転換は非常に困難である。サクラ属の不和合性認識機構を解明するためには形質転換実験が必要不可欠である。そこでアグロバクテリウム法およびウイルスベクターによるサクラ属の形質転換について検討し、形質転換体を得ることに成功した。

## 3. 現在までの達成度

## ② おおむね順調に進展している

サクラ属の自家不和合性における自己非自己認識の分子機構の全体像を解明するにはまだ検討事項がかなり多く残っているが、雌ずい側因子である S-RNase や花粉側因子である SFB と相互作用するタンパク質をいくつかクローニングすることに成功しており、またその解析が進んでいる。さらにサクラ属植物の形質転換も可能になっていることから、おおむね順調な進展をしていると判断した。

#### 4. 今後の研究の推進方策

今後はこれまでに得られたデータを論文としてとりまとめて発表するために必要な補足データを得るための実験を行う予定である。また、これまでに得たデータをさらに吟味して、バラ科サクラ属における自己非自己認識を説明するための作業仮説を構築する。

#### 5. 代表的な研究成果

(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5件)

①Tsukamoto, T., N.R. Hauck, R. Tao, N. Jiang, and A.F. Iezzoni. 2010. Molecular and genetic analyses of four non-functional S haplotype variant derived from a common ancestral S haplotype identified in sour cherry (*Prunus cerasus* L.). *Genetics* 184:411-427. (査読有)

②Yamane, H. and R. Tao. 2009. Molecular basis of self-(in)compatibility and current status of S-genotyping in rosaceous fruit trees. *J. Japan. Hort. Sci.* 78:137-157. (査読有)

③Fernandez i Marti, A., T. Hanada, J.M. Alonso, H. Yamane, R. Tao, and R. Socias i Company. 2009. A modifier locus affecting the expression of the S-RNase gene could be the cause of breakdown of self-incompatibility in almond. *Sex. Plant Reprod.* 22: 179-186. (査読有)

④Hanada, T., K. Fukuta., H. Yamane, T. Esumi, and R. Tao. 2009. Cloning and characterization of a self-compatible Sf haplotype in almond (*Prunus dulcis* (mill.) D. A. Webb. syn. *P. amygdalus* Batsch) to resolve previous confusion in its Sf-RNase sequence. *HortScience* 44:609-613. (査読有)

⑤Matsumoto, D., H. Yamane, and R. Tao. 2008. Characterization of SLFL1, a pollen-expressed F-box gene located in the *Prunus* S locus. *Sex. Plant Reprod.* 21:113-121. (査読有)

[学会発表] (計5件)

①田尾龍太郎・Fernandez, A. ・赤木剛士・花田俊男・Alonso, J. ・Socias i Company, R. アーモンドの自家和合性に関わる Sf ハプロタイプの解析. 平成 22 年度園芸学会秋季大会. 平成 22 年 9 月 20 日. 大分大学旦野原キャンパス.

②花田俊男・木部隆則・江角智也・山根久代・

菅辺幸男・八重垣秀明・山口正己・Dandekar, A.M., Gradziel, T.M. ・田尾龍太郎. モモとモモ近縁種における S ハプロタイプの共通性. 平成 21 年度園芸学会秋季大会. 平成 21 年 9 月 27 日. 秋田大学手形キャンパス.

③花田俊男・木部隆則・渡晶子・江角智也・山根久代・菅辺幸男・八重垣秀明・山口正己・Dandekar・A.M., Gradziel・T.M., Wunschi, A. ・田尾龍太郎. S ハプロタイプの解析により示唆されたモモの自家和合化機構. 平成 21 年度園芸学会秋季大会. 平成 21 年 9 月 27 日. 秋田大学手形キャンパス.

④花田俊男・渡晶子・菅辺幸男・八重垣秀明・山口正己・田尾龍太郎. モモにおける自家和合性 S ハプロタイプのクローニングと塩基配列解析. 平成 21 年度園芸学会春季大会. 平成 21 年 3 月 20 日. 明治大学駿河台キャンパス.

⑤松本大生・山根久代・田尾龍太郎. サクラ属果樹における花粉側因子 SFB と相互作用する Skp1 の同定. 平成 20 年度園芸学会秋季大会. 平成 20 年 9 月 28 日. 三重大学共通教育棟・生物資源学部棟.