

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年5月28日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H04854

研究課題名(和文) アブラナ科植物の自家不和合性と耐病性を制御する下流因子との共通性とクロストーク

研究課題名(英文) Commonality and diversity of downstream genes between Brassica self-incompatibility and plant-pathogen interaction

研究代表者

渡辺 正夫 (Watanabe, Masao)

東北大学・生命科学研究科・教授

研究者番号：90240522

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,900,000円

研究成果の概要(和文)：自家不和合性系統(SC-a, SC-b)を遺伝学的手法でマッピングし、SC-a系統の自家不和合性原因遺伝子領域に、自家不和合性関連遺伝子が多数存在していた。発現解析等から同定したSC-a-1遺伝子のRNAi系統を自家不和合性植物体で作出したところ、部分的な自家不和合性を示し、この不和合性の候補と考えた。この遺伝子と耐病性との表現型について、共通性は見出せなかった。SC-b系統ではS遺伝子座と連鎖していたが、その候補領域は1Mb程度であった。これらの成果に加えて、class-II内でのS対立遺伝子間での優劣性、異なる集団間での優劣性機構も解明した。なお、本研究期間中にアウトリーチ活動を250件実施した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アブラナ科植物の自家不和合性における花粉と雌しべとの相互作用は、植物を代表する細胞間コミュニケーションのモデルである。この自己・非自己認識システムの下流がどのように制御されているのかということは、他の自己識別システムである「耐病性」などとの下流との比較は重要であると考えられる。また、自家不和合性下流因子の理解は、自家不和合性形質を利用した経済的F1採種において、自家不和合性系統の効率的排除にも利用でき、社会的な意義も有している。今回の成果で耐病性との関連性は見出せなかったが、下流因子候補、連鎖している遺伝子を見出したことは、学術面と社会実装という採種面にも貢献できると判断した。

研究成果の概要(英文)：In order to dissect the self-compatible lines (SC-a and SC-b), linkage molecular markers to SC trait were identified. In the case of SC-a, several SI-related genes were identified. On candidate gene, SC-a-1, RNAi lines were established, and showed partial SC phenotype. In the case of SC-b, this SC gene was tightly linked S gene. Furthermore, I determined the molecular mechanism of dominance relationship within class-II S haplotypes, and novel unilateral incompatibility between Japanese and Turkish population. In addition to the experiments, we also performed the outreach activities to elementary school, high school students.

研究分野：植物分子育種学

キーワード：アブラナ科植物 自家不和合性 耐病性 下流因子 共通性 多様性 クロストーク

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

アブラナ科植物の自家不和合性は、1 遺伝子座 *S* 複対立遺伝子系で説明され、花粉側、柱頭側 *S* 因子として *SP11*、*SRK* がそれぞれ単離され、同一 *S* 対立遺伝子間で *SP11-SRK* が特異的に結合することによって、自家不和合性が誘起されることが示されていた。また、*S* 遺伝子が胞子体的に機能するため、*S* 対立遺伝子間には優劣性が生じる。花粉側の優劣性は、class-I に分類される *S* 対立遺伝子が、class-II の *S* 対立遺伝子を抑制する分子機構にエピジェネティックな制御が機能していることが示され、*S* 遺伝子座が有する機能は、解明されつつあった。つまり、*SRK* 下流因子は *MLPK*、*ARC1*、*THL1* などのいくつかの因子が単離されているが、この因子だけで自己シグナルの細胞内での伝達を証明できていない。還元すれば、*SRK* の下流因子の実態解明が、自家不和合性研究の主題になりつつある。

また、古くから、自家不和合性の表現型と植物と病原微生物の抵抗性反応に共通性が示されているが、その実態は不明であった。

2. 研究の目的

本研究では、申請者らが自然集団から単離した自家和合性 *Brassica rapa* 系統(SC-a, SC-b)を分子遺伝学的に解析し、*S* 遺伝子下流因子の単離・解析を行う。さらには、その因子の耐病性について検討を行う。

3. 研究の方法

自然集団から単離した自家和合性を示す SC-a, SC-b 系統を用いて、分子遺伝学、遺伝子導入、発現遺伝子の網羅的解析、*in silico* 解析等を融合して、研究を展開した。

4. 研究成果

(1) SC-a 系統における自家和合性因子の解析

自家和合性(SC)を示す SC-a 系統の自家和合性因子が第一染色体に座乗していることを異なる遺伝的背景の自家不和合性(SI)系統との交雑で確認した。遺伝子発現、遺伝子機能分類から、protein kinase 相同遺伝子、*ARC1* 相同遺伝子の候補遺伝子の他に、膜状に位置することが想定される遺伝子も同定できた。これらの中から、*SC-a-1* 遺伝子について、SI 系統に対して、RNAi により遺伝子破壊を試み、部分的な SC 表現型を得たことから、*SC-a-1* 遺伝子がその候補として、高い可能性があることを示した。

(2) SC-b 系統における自家和合性因子の解析

小孢子培養により、第七染色体に座乗している SC 系統を固定した。マーカー解析から *S* 遺伝子座と連鎖していたが、詳細な遺伝学的な解析から *S* 遺伝子座そのものに変異があるのではなく、1Mb 程度の領域に自家和合性因子があることまでは解明できたが、それ以上近接したマーカーを得ることができなかった。解析する F₂ 集団の規模を大きくすることが必須であることが明確となった。

(3) 耐病性との関連性

耐病性遺伝子に特異的な過酸化生成についての自家不和合性と耐病性との表現型の共通性は見出せなかった。

(4) 自家不和合性に関連した研究の展開

これまで class-I に分類される *S* 対立遺伝子と class-II に分類される *S* 対立遺伝子間で見られる花粉側の優劣性に低分子 RNA を介したエピジェネティックな制御が関与していることを示してきた。本研究の一環として、class-II 内での *S* 対立遺伝子間の優劣性には、class-I と class-II 間の低分子 RNA とは異なる領域の低分子 RNA によってエピジェネティックな制御がなされていることを示した。また、異なる集団間(日本とトルコ)での一側性不和合性が *S* 遺伝子座の重複によってできた *UI* 遺伝子座において、花粉側因子、雌しべ側因子がトルコと日本の系統においてのみ機能型であることから、一方向性の不和合性が生じることを示した。

なお、本研究期間中にアウトリーチ活動を小中高校、一般市民向けに 250 件(12,010 人)実施した。さらに、小中高校生から受け取った手紙・レポートに対して、全てにコメントを行った。本研究に連動したアウトリーチ活動として、小中高校の教員・保護者などから高い評価を得た。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 7 件)

Takeda, S., Ochiai, K., Egusa, W., Morimoto, H., Sakazono, S., Osaka, M., Nabemoto, M., Kagaya, Y., Suzuki, G., Watanabe, M., and Suwabe, K. (2018) Abscisic acid-mediated developmental flexibility of stigmatic papillae in response to ambient humidity in *Arabidopsis thaliana*. **Genes Genet. Syst.** 93: 209-220., DOI: <https://doi.org/10.1266/ggs.18-00025>, 査読有.

Takada, Y., Murase, K., Shimosato-Asano, H., Sato, T., Nakanishi, H., Suwabe, K., Shimizu, K. K., Lim, Y.-P., Takayama, S., Suzuki, G., and Watanabe M. (2017) Duplicated incompatibility genes create a reproductive barrier in *Brassica rapa*. **Nature Plants** 3: 17096., DOI: 10.1038/nplants.2017.96, 査読有.

Ito-Inaba Y, Masuko-Suzuki H, Maekawa H, Watanabe, M., Inaba, T. (2016) Characterization of

two *PEBP* genes, *SrFT* and *SrMFT*, in thermogenic skunk cabbage (*Symplocarpus renifolius*). **Sci. Rep.** 6: 29440., DOI:10.1038/srep29440, 査読有.

Maeda S, Sakazono S, Masuko-Suzuki H, Taguchi M, Yamamura K, Nagano K, Endo T, Saeki K, Osaka M, Nabemoto M, Ito K, Kudo T, Kobayashi M, Kawagishi M, Fujita K, Nanjo H, Shindo T, Yano K, Suzuki G, Suwabe K, Watanabe M. (2016) Comparative analysis of microRNA profiles of rice anthers between cool-sensitive and cool-tolerant cultivars under cool-temperature stress. **Genes Genet. Syst.** 91: 97-109., DOI:10.1266/ggs.15-00056, 査読有.

Kudo T, Sasaki Y, Terashima S, Matsuda-Imai N, Takano T, Saito M, Kanno M, Ozaki S, Suwabe K, Suzuki G, Watanabe M, Matsuoka M, Takayama S, Yano K (2016) Identification of reference genes for quantitative expression analysis using large scale RNA-seq data of *Arabidopsis thaliana* and model crop plants. **Genes Genet. Syst.** 91: 111-125., DOI: 10.1266/ggs.15-00065, 査読有.

Nabemoto M, Watanabe R, Ohsu M, Sato K, Otani M, Nakayachi O, Watanabe M (2016) Molecular characterization of genes encoding isoamylase-type debranching enzyme in tuberous root of sweet potato, *Ipomoea batatas* (L.) Lam. **Plant Biotechnol.** 33: 351-359., DOI: 10.5511/plantbiotechnology.16.0926a, 査読有.

Yasuda S, Wada Y, Kakizaki T, Tarutani Y, Miura-Uno E, Murase K, Fujii S, Hioki T, Shimoda T, Takada Y, Shiba H, Takasaki-Yasuda T, Suzuki G, Watanabe M, Takayama, S. (2016) Complex dominance hierarchy controlled by polymorphism of small RNAs and their targets. **Nature Plants** 3: 16206., DOI:10.1038/nplants.2016.206, 査読有.

[学会発表](計 28 件)

佐藤優衣, 高田美信, 和田七夕子, 高山誠司, 鈴木剛, 渡辺正夫 (2019) *Brassica rapa* における種内一側性不和合性を支配する花粉側因子 *PUII* の遺伝子発現機構の解析. 日本育種学会 135 回講演会, 千葉市, 2019/03/16-17.

Egusa, W., Takada, M., Takeda, S., Ochiai, K., Sakazono, S., Osaka, M., Kagaya, Y., Suzuki, G., Watanabe, M. and Suwabe, K. (2019) Developmental flexibility of stigmatic papilla cell in response to abiotic stress in *Arabidopsis thaliana*. Plant and Animal Genome XXVII, San Diego, USA, 2019/01/12-16.

Ota, T., Mizoguchi, Y., Ando, M., Kagaya, Y., Suzuki, G., Watanabe, M. and Suwabe, K. (2019) Pollen hydration mechanism on pollination in *Arabidopsis thaliana*. Plant and Animal Genome XXVII, San Diego, USA, 2019/01/12-16.

Watanabe, M. (2018) Toward to collaborative research with *Brassica* crops between Japan and Korea. Improvement of important agricultural traits based on genomic information of horticultural crops, Sunchon, Korea, 2018/12/17-19 (招待講演)

安田晋輔, 和田七夕子, 柿崎智博, 樽谷芳明, 宇野栄子, 村瀬浩司, 藤井壮太, 日置智也, 下田大貴, 高田美信, 柴博史, 安田剛志, 鈴木剛, 渡辺正夫, 高山誠司 (2018) アブラナ科植物における自家不和合性決定花粉因子の複対立遺伝子間優劣性制御機構. 日本育種学会 第 134 回講演会ワークショップ「アブラナ科植物における自家不和合性研究の最前線と育種現場での利用」. 岡山市, 2018/09/22-23.

高田美信, 鈴木剛, 清水健太郎, 高山誠司, 渡辺正夫 (2018) 自家不和合性遺伝子の重複と相互機能欠失によるアブラナ科植物の一側性不和合性機構. 日本育種学会 第 134 回講演会ワークショップ「アブラナ科植物における自家不和合性研究の最前線と育種現場での利用」. 岡山市, 2018/09/22-23.

Ota, T., Mizoguchi, Y., Ando, M., Kagaya, Y., Suzuki, G., Watanabe, M. and Suwabe, K. (2018) Morphological aspect and molecular mechanism of pollen hydration on pollination in *Arabidopsis thaliana*. International Plant Molecular Biology 2018, Montpellier, France, 2018/8/5-10.

大畠麻由, 高田美信, 村瀬浩司, 柴博史, 高山誠司, 鈴木剛, 渡辺正夫 (2018) *Brassica rapa* における MLPK 非依存的な自家不和合性機構. 日本育種学会第 133 回講演会, 福岡市, 2018/03/25-26.

佐藤優衣, 高田美信, 大坂正明, 高山誠司, 鈴木剛, 渡辺正夫 (2018) *Brassica rapa* の一側性不和合性花粉側因子 *PUII* の発現解析. 日本育種学会第 133 回講演会, 福岡市, 2018/03/25-26.

森信之介, 新間秀一, 増子(鈴木)潤美, 渡辺正夫, 中西テツ, 月岡淳子, 後藤勝実, 福井宏至, 平井伸博 (2018) ウメ'南高'の異常発達花粉が示す蛍光とミツバチ訪花行動の関係. 園芸学会平成 30 年度春季大会, 奈良市, 2018/03/24-25.

平井伸博, 森信之介, 新間秀一, 増子(鈴木)潤美, 渡辺正夫, 中西テツ, 月岡淳子, 後藤勝実, 福井宏至 (2018) 蛍光性ウメ花粉の発達異常の解析とそのミツバチ訪花行動への影響. 日本農芸化学会 2018 年度名古屋大会, 名古屋市, 2018/03/15-19.

村瀬浩司, 森智行, 劉瀟, 真坂知帆, 平野良憲, 浅野(下里)裕子, 高田美信, 渡辺正夫, 磯貝彰, 箱嶋敏雄, 高山誠司 (2018) アブラナ科植物の自家不和合性におけるリガンド受容体複合体の結晶構造. 日本農芸化学会 2018 年度名古屋大会, 名古屋市, 2018/03/15-19.

Watanabe, M. (2018) Self-incompatibility in cruciferous plants -Molecular mechanisms and recent topics-. International Symposium of Plant Science in UC San Diego, San Diego, USA, 2018/01/16. (招待講演)

Takada, Y., Murase, K., Shimosato-Asano, H., Sato, T., Nakanishi, H., Suwabe, K., Shimizu, K. K., Lim, Y. P., Takayama, S., Suzuki, G., and Watanabe, M. (2018) Novel unilateral incompatibility in *Brassica rapa* is regulated by duplicated self-incompatibility genes, *PUII* and *SUII*. International Plant & Animal Genome XXVI, San Diego, USA, 2018/01/13-16. (招待講演)

武田和哉, 渡辺正夫, 吉川真司 (2017) 歴史史料・図像等の文化資源よりみたアブラナ科植物の形質等の変異に関する萌芽の研究. 人文情報学研究の最前線 2017(-The Leading Edges of Humane Informatics 2017- "LEHI 2017), 京都市, 2017/12/16. (招待講演)

Watanabe, M. (2017) Molecular mechanisms of self-incompatibility in *Brassica*. Plant Biology at Tohoku University, Sendai, Japan, 2017/11/07. (招待講演)

Takada, Y., Murase, K., Shimosato-Adano, H., Sato, T., Nakanishi, H., Suwabe, K., Shimizu, K. K., Lim, Y. P., Takayama, S., Suzuki, G., and Watanabe, M. (2017) Identification and characterization of the novel pollen-stigma recognition factors for unilateral incompatibility in *Brassica rapa*. Taiwan-Japan Plant Biology 2017, Taipei, Taiwan, 2017/11/3-6.

森信之介, 新聞秀一, 増子(鈴木)潤美, 渡辺正夫, 中西テツ, 月岡淳子, 福井宏至, 後藤勝実, 平井伸博 (2017) ウメ花粉の発達異常と蛍光およびそのミツバチ訪花行動への影響. 植物科学調節学会第 52 回大会, 鹿児島, 2017/10/27-29.

高田美信, 村瀬浩二, 浅野(下里)裕子, 佐藤陽洋, 中西ほのか, 諏訪部圭太, Lim Yong Pyo, 清水健太郎, 高山誠司, 鈴木剛, 渡辺正夫 (2017) *Brassica rapa* の種内一側性不和合性を支配する花粉・柱頭認識因子の決定. 日本育種学会第 132 回講演会, 盛岡市, 2017/10/07-08.

高田美信, 中西ほのか, 村瀬浩司, 浅野(下里)裕子, 佐藤陽洋, Yong Pyo Lim, 清水健太郎, 高山誠司, 諏訪部圭太, 鈴木剛, 渡辺正夫 (2017) *Brassica rapa* の A04 染色体には新規生殖障壁遺伝子が存在する. 日本染色体学会. 東広島市, 2017/10/5-7.

21 森信之介, 新聞秀一, 増子(鈴木)潤美, 渡辺正夫, 中西テツ, 月岡淳子, 福井宏至, 後藤勝実, 平井伸博 (2017) ウメ不稔性花粉の蛍光とミツバチ訪花行動への影響の考察. 日本花粉学会第 58 回大会, 浜松, 2017/09/15-18.

22 高田美信, 鈴木剛, 中西ほのか, 村瀬浩司, 浅野(下里)裕子, 佐藤陽洋, 諏訪部圭太, Lim Yong Pyo, 清水健太郎, 高山誠司, 渡辺正夫 (2017) 自己花粉を認識するリガンド・レセプター遺伝子セットの重複が非自己花粉の拒絶を引き起こす. 日本遺伝学会, 岡山市, 2017/09/13-16.

23 Egusa, W., Takeda, S., Ochiai, K., Morimoto, H., Kagaya, Y., Suzuki, G., Watanabe, M., and Suwabe, K. (2017) ABA-mediated stress response mechanism modulates stigmatic papillae development in *Arabidopsis thaliana*. Global Conference on Plant Science and Molecular Biology, Valencia, Spain, 2017/9/11-13.

24 高田美信, 鈴木剛, 村瀬浩司, 浅野(下里)裕子, 佐藤陽洋, 中西ほのか, 諏訪部圭太, Lim Yong Pyo, 清水健太郎, 高山誠司, 渡辺正夫 (2017) *Brassica rapa* の種内一側性不和合性を制御する *SUII-PUII* 遺伝子. 日本植物細胞分子生物学会, さいたま市, 2017/08/29-31.

25 渡辺正夫, 別府和則, 高橋典子, 寺岸俊哉, 安藤晃 (2017) 出前講義から垣間見た日本における STEM 教育の現状. 第 41 回日本科学教育学会年会, 高松市, 2017/08/29-31. (招待講演)

26 Egusa W, Takeda S, Ochiai K, Morimoto H, Sakazono S, Osaka M, Nabemoto M, Kagaya Y, Suzuki G, Watanabe M, Suwabe K (2017) ABA-mediated flexibility of female stigmatic papillae development in *Arabidopsis thaliana*. International Plant & Animal Genome XXV, San Diego, USA, 2017/1/14-18

27 Morimoto H, Egusa W, Arakawa C, Masuko-Suzuki H, Suzuki G, Watanabe M, Suwabe K (2017) Pollen-cysteine rich peptide CR3 regulates pollen germination in *Arabidopsis thaliana*. International Plant & Animal Genome XXV, San Diego, USA, 2017/1/14-18

28 Morimoto H, Egusa W, Arakawa C, Masuko-Suzuki H, Suzuki G, Watanabe M, Suwabe M (2016) CR3, a pollen cysteine-rich peptide, induces pollen germination. The International Conference on Arabidopsis Research, Gyeongju, Korea, 2016/06/29-07/03.

〔図書〕(計 5 件)

渡辺正夫 (2018) 今を正しく理解し、未来を見通して行動できる人材育成を目指して～深謀遠慮から真の「教養」は生まれる～. 全学教育広報 曙光 45: 9-11.

渡辺正夫 (2017) "植物における生殖の不思議と自家不和合性", In "遺伝学用語集 対訳付き(日本遺伝学会監修・編)", エヌ・ティー・エス出版, pp158-163.

高田美信, 鈴木剛, 渡辺正夫 (2017) アブラナ科植物において自他を認識する遺伝子の遺伝子重複と相互の機能喪失により生じた新たな生殖障壁. ライフサイエンス 新着論文レビュー, DOI: 10.7875/first.author.2017.074.

高田美信, 鈴木剛, 渡辺正夫 (2017) コマツナ栽培品種とトルコ由来系統間の交雑に生じた一側性不和合性の認識機構. アグリバイオ, 1: 60-62.

渡辺正夫 (2016) "植物の性", In "植物学の百科事典", 丸善出版, pp466-467.

〔その他〕

新聞記事、TV 放送、受賞など

平成 30 年度「仙台市理科特別授業」への感謝状, 2019 年 2 月 21 日.

学問の魅力伝え出前授業 1000 回 東北大大学院の渡辺教授、河北新報社、2018 年 12 月 29 日.

第 4 回 植物のたくみな生殖戦略「自家不和合性」、中高生が第一線の研究者を訪問「これから研究の話をしよう」、2018 年 9 月, テルモ生命科学芸術財団.

楽しい理科のはなし 2018 不思議の箱を開けよう, 2018 年 7 月 29 日, 河北新報.

平成 29 年度東北大学総長教育賞, 2018 年 3 月 25 日.

平成 29 年度「仙台市理科特別授業」への感謝状, 2018 年 2 月 21 日.

平成 29 年度東北大学全学教育貢献賞, 2018 年 1 月 5 日.

身近な研究の成果披露 五所高 理数科 2 年生が発表会、東奥日報社、2017 年 11 月 23 日.

日本育種学会第 132 回講演会優秀発表賞, 2017 年 11 月.

植物の生態 興味津々 上島・魚島小中 渡辺教授(東北大大学院 今治市出身)出前授業、愛媛新聞社、2017 年 10 月 26 日

日本とトルコのアブラナは、なぜ交配できない? -自家不和合性遺伝子が作り出す生殖隔離、Nature Japan/Nature Plants、2017 年 8 月 30 日

楽しい理科の話 2017 不思議の箱を開けよう-キャベツとブロッコリー 何が同じ?何が違う?-, 河北新報社、2017 年 7 月 29 日

交配妨げる遺伝子の仕組み解明、毎日新聞社、2017 年 7 月 6 日

平成 28 年度「仙台市理科特別授業」への感謝状, 2017 年 2 月 22 日.

「ふるさと出前授業」への感謝状, 2017 年 2 月 15 日.

メンデルの法則解明 優性遺伝子が劣性を”邪魔”世界で初 奈良先端科学技術大学院大学、日本農業新聞、2016 年 12 月 23 日

「メンデルの法則」の謎解明、NHK 関西 NEWS WEB、2016 年 12 月 23 日

遺伝子の「優性の法則」、低分子 RNA が制御 東北大が仕組み解明、日刊工業新聞社、2016 年 12 月 23 日

楽しい理科の話 2016 不思議の箱を開けよう-キャベツとブロッコリー 何が同じ?何が違う?-, 河北新報社、2016 年 7 月 30 日

ホームページ等

<http://www.ige.tohoku.ac.jp/prg/watanabe/>

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

渡辺 正夫 (WATANABE, MASAO)

東北大学・大学院生命科学研究科・教授

研究者番号：90240522

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。