

令和 3 年 4 月 20 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16H04855

研究課題名(和文)バラ科果樹における自家不和合性「多因子非自己認識」機構とその進化

研究課題名(英文) Mechanism and evolution of 'non-self recognition by multiple factors' type self-incompatibility in rosaceous fruit trees

研究代表者

佐々 英徳 (Sassa, Hidenori)

千葉大学・大学院園芸学研究科・教授

研究者番号：50295507

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,100,000円

研究成果の概要(和文)：バラ科の自家不和合性は雌ずい側因子がS-RNaseであるRNase型で、ナシ連(ナシ、リンゴ)では複数の花粉側因子SFBBが非自己のS-RNaseを認識する「多因子非自己認識型」を示すとされている。しかし、その分子機構の詳細は不明である。その主な原因は、SFBBタンパク質は花粉に極微量にしか存在しない上、組換えタンパク質の発現も極めて困難なためである。

本研究で様々なタンパク質発現系や条件の検討を行い、組換えSFBBタンパク質の発現系を作ることに成功した。並行して、タンパク質間相互作用解析に用いるツールの開発も行った。これらの実験系は、自家不和合性分子機構の解明に有効に活用できると思われる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

バラ科の自家不和合性花粉側因子SFBBタンパク質の安定的な発現系はこれまでになく、自家不和合性研究の大きな障害になっていた。本研究で確立したSFBBタンパク質の発現系は、自家不和合性機構の解明にむけた重要な基盤となる。

研究成果の概要(英文)：Pyreae of Rosaceae (i.e., pear and apple) exhibit RNase-based self-incompatibility in which multiple pollen-part determinants SFBBs recognize non-self S-RNases, however, biochemical data supporting the model is not available partly because expression of recombinant SFBB protein is almost impossible. In this study, we tested many protein expression systems and conditions, and established a SFBB protein expression system. Along with the newly developed tools for protein-protein interaction analysis, the SFBB expression will be useful for analysis of interaction between SFBB and S-RNase to gain insight into the molecular basis of self-incompatibility.

研究分野：植物遺伝育種学

キーワード：自家不和合性 バラ科 RNase F-box 雌ずい 花粉

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

自家不和合性は、雌ずい側因子が S-RNase である RNase 型が最も進化的起源が古く、様々な分類群に広く分布しているとされている。バラ科においてはサクラ連(オウトウなど)では単一の花粉側因子 SFB が自己 S-RNase を認識する「単因子自己認識型」を示すが、興味深いことに、我々は、ナシ連(ナシ、リンゴ)では複数の花粉側因子 SFBB が非自己の S-RNase を認識する「多因子非自己認識型」を示すことを見出した(Kakui ら Plant J (2011))。だが、これら 2 タイプは分子レベルでどのように異なり、なぜバラ科に共存しているのかは不明である。さらに、バラ科においては SFBB の花粉側因子としての機能証明の報告も、自家不和合性機構モデルの生化学的証拠もこれまでない。その主な原因は、SFBB タンパク質は花粉に極微量にしか存在しない上、組換えタンパク質の発現も極めて困難なためである。

2. 研究の目的

本研究では、ナシ連の「多因子非自己認識型」機構に關与する因子の特定と機能解析を進め「単因子自己認識型」との異同の分子基盤と、バラ科におけるこれらの 2 タイプの進化的関係を解明することを目的とする。そのために、ナシ連の花粉側因子 SFBB の組換えタンパク質の発現系の構築を試みた。

3. 研究の方法

大腸菌での発現系に用いる様々なベクター・菌株の組み合わせや培養条件、他の生物種での発現系などを用い、SFBB のいくつかのアリルについて、組換えタンパク質の発現を試みた。発現ベクター構築の際、SFBB の前後に様々なタグ配列を連結し、組換えタンパク質発現の有無は、タグに対する抗体を用いたイムノプロットで解析した。

4. 研究成果

ある生物種の発現系でのみ、SFBB タンパク質を可用性画分に発現させられることが判った。しかしアリルによっては組換えタンパク質の発現が見られなかったため、さらにベクターの検

討などを行った結果、それまで発現の見られなかった SFBB でも発現可能となった。更に並行して、タンパク質間相互作用実験に使用可能な新規なツールの開発も行った。これら SFBB タンパク質発現系やタンパク質間相互作用実験ツールを利用して、SFBB と S-RNase の相互作用解析を行うことで、自家不和合性分子機構の解明に寄与できるものと期待された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Setiawan, A.B., Teo, C.H., Kikuchi, S., Sassa, H. and Koba, K.	4. 巻 11
2. 論文標題 An improved method for inducing prometaphase chromosomes in plants.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Mol. Cytogenet.	6. 最初と最後の頁 32
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s13039-018-0380-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Nuntha, B., Kikuchi, S., Taychasinpitak, T., Sassa, H. and Koba, T.	4. 巻 82
2. 論文標題 High genomic affinity between <i>Torenia baillonii</i> and <i>Torenia fournieri</i> revealed by genome analysis using a triploid hybrid	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Cytologia	6. 最初と最後の頁 213-218
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1508/cytologia.82.213	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Setiawan, A.B., Teo, C.H., Kikuchi, S., Sassa, H., Kato, K. and Koba, T.	4. 巻 21
2. 論文標題 Cytogenetic variation among <i>Cucumis</i> accessions revealed by fluorescence in situ hybridization using ribosomal RNA genes as the probes	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Chromosome Sci.	6. 最初と最後の頁 67-73
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.11352/scr.21.67	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 齋藤直美 佐々英徳
2. 発表標題 新規SFBBの単離と自家不和合性の弱いニホンナシ品種「なつひかり」の解析
3. 学会等名 日本育種学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 小川洋一 佐々英徳
2. 発表標題 花粉液体培養系における定量的評価法の確立
3. 学会等名 日本育種学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 茅野史香 小糸恵 毛利勇太 南川舞 近藤勝彦 神山康夫 佐々英徳
2. 発表標題 トマト野生種 <i>Solanum arcanum</i> におけるSLF(S-locus F-box)の単離と花粉側自家和合性変異体の解析
3. 学会等名 日本育種学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Sassa, H., Chino, F., Koito, M., Mouri, Y., Minamikawa, M.F., Kondo, K., Koyama, Y.
2. 発表標題 Characterization of a pollen-part self-compatible mutant in <i>Solanum arcanum</i>
3. 学会等名 25th International Congress on Sexual Plant Reproduction (国際学会)
4. 発表年 2018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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------