

令和元年6月11日現在

機関番号：15101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K18635

研究課題名(和文) 麦類の小花発達を制御する分子機構解明

研究課題名(英文) Deciphering molecular mechanisms of floret development in Triticeae crops

研究代表者

佐久間 俊 (SAKUMA, Shun)

鳥取大学・農学部・助教

研究者番号：40717352

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：麦類作物の穀粒収量は穂形態に大きく影響される。しかし、穂形を制御する遺伝子はほとんど明らかになっていないためDNAマーカーの利用による効率的な選抜育種が難しいのが現状である。そこで、本研究では麦類作物の小花の発達を制御する遺伝子の同定と機能解明を行った。オオムギの穀粒サイズを制御するVrs1.t遺伝子とコムギの穀粒数を制御するGNI1遺伝子を明らかにした。Vrs1.t1は穀粒を生産しない小花を極端に退化させることで穀粒を生産する小花の発達を促進させることがわかった。GNI1は通常は不稔になる小花を発達させることで穀粒数を増加させる効果を持つことがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、オオムギとコムギの収量性を向上させる穂形態を制御する遺伝子が明らかになった。地球規模の気候変動に伴う減収が懸念される中、収量性の向上は世界共通の課題である。単離した遺伝子はいずれも自然に存在する変異で長い年月をかけて選抜されたものである。今後この遺伝子を利用することで効率的な収量性の改善が期待できる。

研究成果の概要(英文)：Inflorescence architecture influences final grain yield in Triticeae crops such as wheat and barley. However, little is known regarding the genetic basis of inflorescence development. This study aimed to identify the genes regulating floret development in wheat and barley. In wheat, the locus Grain Number Increase 1 (GNI1) has been identified as an important contributor to floret fertility. Mutants carrying an impaired GNI1 allele out-yielded WT allele plants under field conditions. In barley, it was revealed that extreme suppression of lateral florets by Vrs1.t allele contributes to enlarged grains. These results suggest that grain yield can be improved by DNA marker assisted selection using the identified genes.

研究分野：植物育種学

キーワード：収量 穂形態 遺伝子 進化 オオムギ コムギ

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

穀類の収量安定性の向上は世界の食糧安全保障の観点から緊急の課題であり、多収性品種の開発が求められている。これまでに作出された多収性品種の特徴は高いシンク能をもつことで、イネを中心に穂型に関する遺伝子単離が進められてきた。麦類においても穂はシンクとして最も重要な収量構成要素であるが、粒数、粒長、粒重などを制御する遺伝子やその分子メカニズムはほとんど明らかになっていなかった。

2. 研究の目的

本研究では麦類の小花発達を制御する分子機構の解明を目的とした。麦類のモデル作物であるオオムギを用いて突然変異体の原因遺伝子を単離し、機能解明することでゲノム構成が複雑なコムギへの応用を目指した。

3. 研究の方法

本研究計画では麦類の小花発達機構を解明するため突然変異体の原因遺伝子の特定を行なった。二倍体のオオムギにはユニークな突然変異体が蓄積しており、次世代シーケンサーを活用した順遺伝学的解析を進めることで遺伝子単離ができる。そこで、突然変異体に野生型形質を示す品種を交配した分離集団を開発し、ポジショナルクローニングを行った。同定した遺伝子の収量性への影響を検証した。さらに、オオムギで単離した遺伝子情報を利用してコムギ相同遺伝子を単離し、TILLING法、形質転換体作成などの逆遺伝学的手法を駆使してコムギでの機能を明らかにした。

4. 研究成果

<オオムギ *Vrs1.t*>

オオムギの穂は二条と六条に大別されるが二条の中にデフィシエンスと呼ばれる側列小花が極端に小さく主列小花が大きいタイプがある (図1)。このデフィシエンスを制御する *Vrs1.t* 遺伝子の原因となる遺伝変異を明らかにした。 *Vrs1.t* はすでに単離されている六条性遺伝子がコードする *VRS1* 転写因子の C 末端領域の一アミノ酸置換によって生じることがわかった (図2)。 *Vrs1.t* は穀粒を生産せず不稔になる小花を極端に退化させることで穀粒を生産する小花の発達を促進させる効果を持つことがわかった。この *Vrs1.t* アリルはエチオピアで選抜され、現在ではヨーロッパに広まり利用が進んでいることもわかった。

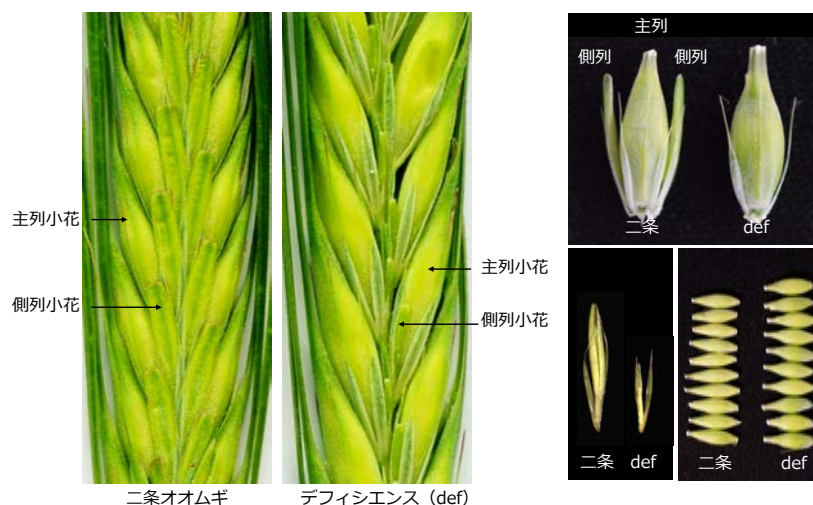


図1 オオムギの穂の構造。二条オオムギは種子を作る主列小花1個と作らない側列小花2個が存在する。通常、側列小花は図のようにある程度発達するが、デフィシエンス型は極度に発達が抑制されている。また、デフィシエンスでは通常型に比べて種子サイズが大きい。

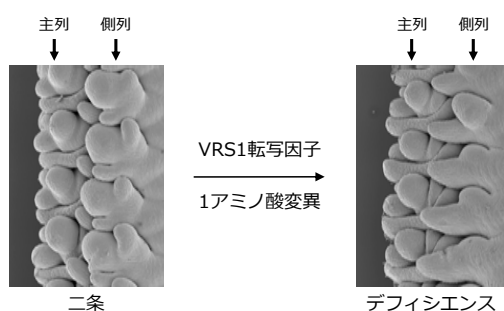


図2 デフィシエンスの原因となる遺伝変異。 *VRS1* 転写因子の1アミノ酸変異によって側列小花の発達が極度に抑えられ、デフィシエンスタイプの穂が作られる。

<コムギ *GNI1*>

コムギの小穂は複数の小花が一对の護穎に包まれた構造をとる。一つの小穂には最大で約 10 個の小花原基が分化するが発達が進むにつれて約7割の小花は退化してしまうため、最終的には 3 個程度の小花が稔実する (図 3)。小花の発達抑制を制御する遺伝子を明らかにすることで穀粒数の増加、最適化が期待できる。そこで本研究では、コムギの穀粒数を制御する量的形質遺伝子座 (QTL) のマッピングを行なった。その結果、第 2A 染色体長腕に効果の大きい QTL を見出し、*Grain Number Increase 1 (GNI1)* とした (図 4)。 *GNI1* のファインマッピングを進め、26 個の候補遺伝子が含まれる 5.4 Mbp 領域に絞り込んだ。候補遺伝子の中にはオオムギ六条性遺伝子の相同性遺伝子が見つかった。マッピングに使用した系統間で配列比較したところ、穀粒数が多い系統で DNA 結合ドメインにアミノ酸置換 (N105Y) が生じていることがわかった。この遺伝子の機能を証明するため、RNAi 形質転換体を作成し、機能を低下させたところ稔実する小花が増えた (図 5)。さらに、TILLING 法によって 105Y 型から 105N に置換した突然変異体を獲得した。105N 変異体では穀粒数が減少したことから野生型アレルは小花を抑制する機能を持つことが証明できた。 *GNI1* 遺伝子の機能低下型アレルを持つコムギ系統は圃場条件で 10-30%収量が向上することが示された。今回の研究結果からオオムギとコムギで同じ遺伝子が栽培化過程で独立に選抜されたことが明らかになった。今後、本研究で同定した遺伝変異を利用した DNA マーカー選抜育種による新品種開発への応用が期待される。

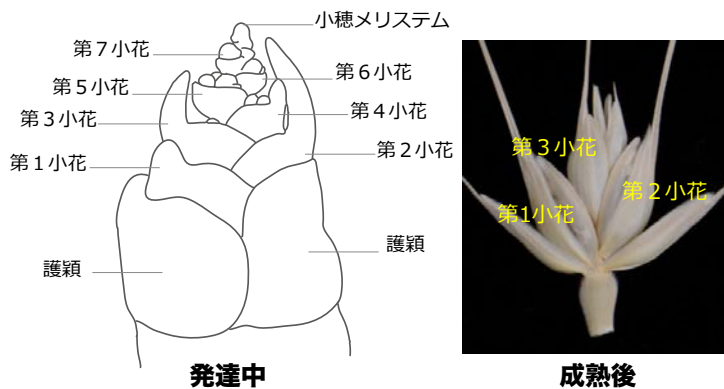


図 3 コムギの小穂構造。最大 10 個程度の小花が分化するが、大半は発達が停止してしまうため種子を作ることができない。できるだけ多くの小花を稔実させれば粒数を増やすことができる。

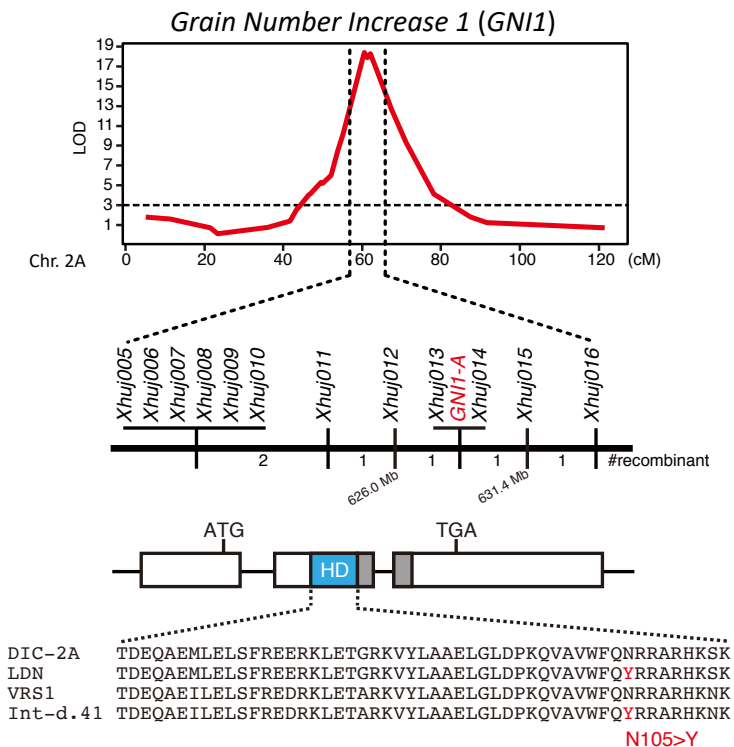


図 4 小穂あたり穀粒数を制御する遺伝子の単離。

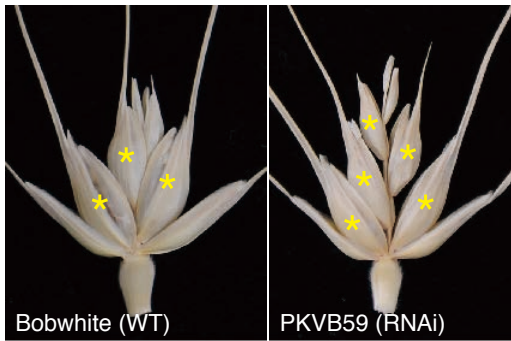


図 5 *GNI1* 遺伝子の RNA 干渉による機能抑制。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計8件, 全て査読あり)

1. [Sakuma, S.*](#), Golan, G., Guo, Z., Ogawa, T., Tagiri, A., Sugimoto, K., Bernhardt, N., Brassac, L., Mascher, M., Hensel, G., Ohnishi, S., Jinno, H., Yamashita, Y., Ayalon, I., Peleg, Z., Schnurbusch, T. and Komatsuda, T.: Unleashing floret fertility in wheat through the mutation of a homeobox gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 116: 5182-5187. 2019.3
2. Casas, AM., Contreras-Moreira, B., Cantalapiedra, CP., [Sakuma, S.](#), Gracia, MP., Moralejo, M., Molina-Cano, JL., Komatsuda, T. and Igartua, E.: Resequencing *Vrs1* gene in Spanish barley landraces revealed reversion of six-rowed to two-rowed spike. *Molecular Breeding* 38: 51 (<https://doi.org/10.1007/s11032-018-0816-z>). 2018.5
3. Pourkheirandish, M., Kanamori, H., Wu, J., [Sakuma, S.](#), Blattner, F. and Komatsuda, T.: Elucidation of the origin of ‘*agriocrithon*’ based on domestication genes questions the hypothesis that Tibet is one of the centers of barley domestication. *The Plant Journal* 94: 525-534. 2018.2
4. Pourkheirandish, M., Dai, F., [Sakuma, S.](#), Kanamori, H., Distelfeld, A., Willcox, G., Kawahara, T., Matsumoto, T., Kilian, B. and Komatsuda, T.: On the origin of the non-brittle rachis trait of domesticated einkorn wheat. *Frontiers in Plant Science* 8: 2031 (<https://doi.org/10.3389/fpls.2017.02031>). 2018.1
5. [Sakuma, S.*](#), Lundqvist, U., Kakei, Y., Thirulogachandar, V., Suzuki, T., Hori, K., Wu, J., Tagiri, A., Rutten, T., Koppolu, R., Shimada, Y., Houston, K., Thomas, WTB., Waugh, R., Schnurbusch, T. and Komatsuda, T.: Extreme suppression of lateral floret development by a single amino acid change in the VRS1 transcription factor. *Plant Physiology* 175: 1720-1731. 2017.11
6. Youssef, HM., Eggert, K., Koppolu, R., Alqudah, AM., Poursarebani, N., Fazeli, A., [Sakuma, S.](#), Tagiri, A., Rutten, T., Govind, G., Lundqvist, U., Graner, A., Komatsuda, T., Sreenivasulu, N. and Schnurbusch, T.: VRS2 regulates hormone-mediated inflorescence patterning in barley. *Nature Genetics* 49: 157-161. 2016.11
7. Liu, C., Suzuki, T., Mishina, K., Habekuss, A., Ziegler, A., Li, C., [Sakuma, S.](#), Chen, G., Pourkheirandish, M. and Komatsuda, T.: Wheat yellow mosaic virus resistance in wheat cultivar Madsen acts in roots but not in leaves. *Journal of General Plant Pathology* 82: 261-267. 2016.9
8. Liu, C., Suzuki, T., [Sakuma, S.](#), Song, J., Li, H., Liu, A., Cao, X., Han, R., Gong, W., Liu, J. and Komatsuda, T.: SYBR Green-based two-step real time quantitative PCR (qPCR) for detection of wheat yellow mosaic virus. *Shandong Agricultural Sciences* 48: 118-124. 2016.7

[学会発表] (計15件)

1. [佐久間俊](#)・Golan, G.・Guo, Z.・小川泰一・田切明美・杉本和彦・大西志全・神野裕信・山下陽子・Peleg, Z.・Schnurbusch, T.・小松田隆夫: コムギの稔実小花数増加による多収化、第135回日本育種学会講演会、千葉県、2019.3
2. [佐久間俊](#): 麦類の小花稔性に関する遺伝機構、第10回中国地域育種談話会、鳥取県、2018.12
3. [佐久間俊](#): コムギ連特異的な遺伝子重複による小花稔性の進化、第13回ムギ類研究会、神奈川県、2018.11
4. [Sakuma, S.](#): Understanding genetic diversity of inflorescence architecture in Triticeae. International Training Course on Triticeae Genomics at IPSR, Okayama, Japan, 2018.10
5. [佐久間俊](#)・小松田隆夫: オオムギ側列小花の極端な発達抑制による大粒化、第134回日本育種学会講演会、岡山県、2018.9
6. 濱田裕司・Anwar, N.・Ning, S.・Pourkheirandish, M.・中川仁・福岡修一・[佐久間俊](#)・永野惇・Milner, S.・Mascher, M.・佐々英徳・木庭卓人・小松田隆夫、オオムギ超開花性突然変異体の原因遺伝子のマッピング、第134回日本育種学会講演会、岡山県、2018.9
7. Mascher, M., Komatsuda, T., Sato, K., Schnurbusch, T., [Sakuma, S.](#): Mutation identification by direct comparison of whole-genome sequencing data of mutant and wild type individuals: the

example of *zero-rowed spike 1*. 2nd International Workshop on Barley Mutant Research. Dundee, Scotland, 2018.6

8. 中山理央・徳永彩乃・佐久間俊・永野惇・荻原保成・川浦香奈子: シラサギコムギの耐塩性に関わるQTL解析、第134回日本育種学会講演会、福岡県、2018.3
9. 三橋優衣・佐久間俊・川浦香奈子: コムギの小穂発達に関する遺伝解析、第12回ムギ類研究会、京都府、2017.12
10. 三橋優衣・佐久間俊・川浦香奈子: コムギにおける擬似分枝を制御する遺伝子の同定。第132回日本育種学会講演会。岩手県、2017.10
11. Sakuma, S., Schnurbusch, T., Komatsuda, T.: Genetic basis of grain number in Triticeae. International Workshop – Barley and wheat orthologous genes, their structure, function and application. 第132回日本育種学会講演会。岩手県、2017.10
12. Anwar, N., Hamada, Y., Sakuma, S., Ning, S., Pourkheirandish, M., Koba, T., Komatsuda, T.: Super-Open Flowering Mutant (*sof1*) of Barley. International Plant & Animal Genome XXV. San Diego, USA, 2017.1
13. Sakuma, S., Komatsuda, T., Nagano, A., Schnurbusch, T.: Deciphering the Genetic Basis of Spikelet Meristem Identity in Barley. International Plant & Animal Genome XXV. San Diego, USA, 2017.1
14. Sakuma, S., Hori, K., Wu, J., Tagiri, A., Lundqvist, U., Komatsuda, T.: Identification of *deficiens* (*Vrs1.l*) responsible for rudimental lateral spikelets and enlarged central grains. The 12th International Barley Genetics Symposium, Minneapolis-St. Paul, USA, 2016.6
15. Casas, A., Contreras-Moreira, B., Sakuma, S., Gracia, MP., Moralejo, M., Molina-Cano, JL., Komatsuda, T., Igartua, E.: A new *Vrs1* allele identified in 2-row Spanish landraces. The 12th International Barley Genetics Symposium, Minneapolis-St. Paul, USA, 2016.6

[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:
番号:
出願年:
国内外の別:

○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

<http://staff.muses.tottori-u.ac.jp/ssakuma/>

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名:

ローマ字氏名:

所属研究機関名:

部局名:

職名:

研究者番号(8桁):

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

※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。