

平成21年5月8日現在

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2007～2008

課題番号：19380005

研究課題名（和文）自家不和合性の自他認識に関わる新たな分子遺伝機構の解明

研究課題名（英文）Elucidation of the molecular genetic mechanism involved in the self/non-self recognition of self-incompatibility in a plant family, Convolvulaceae

研究代表者 神山 康夫 (KOWYAMA YASUO)

三重大学・大学院生物資源学研究科・特任教授

研究者番号：80024579

研究成果の概要：種々の植物が有する自家不和合性は、自家受精を抑制し後代子孫の内婚弱勢を回避するのに寄与している遺伝的な性質である。本研究では、ヒルガオ科の自家不和合性に関与する遺伝子を明らかにしその分子機構を解明することを目的として、サツマイモ野生種のゲノム解析と遺伝子発現解析を行った。その結果、ヒルガオ科の自家不和合性に関与する雌蕊側と花粉側の各S遺伝子候補が同定され、新たな自他認識機構の関与が示唆された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	5,400,000	1,620,000	7,020,000
2008年度	4,500,000	1,350,000	5,850,000
年度			
年度			
年度			
総計	9,900,000	2,970,000	12,870,000

研究分野：植物遺伝育種学

科研費の分科・細目：農学・育種学

キーワード：植物生殖様式、自家不和合性、ヒルガオ科、*Ipomoea* 属、サツマイモ野生種、分子遺伝学、ゲノム解析、形質転換植物

1. 研究開始当初の背景

自家不和合性は、被子植物に特有な性質で多くの植物種において知られており、自家受精を抑制し他家受粉を促進することによって後代子孫の内婚弱勢を回避し、植物集団内の遺伝的多様性を維持するのに大きな役割を果たしている。この性質は少数の遺伝子座によって制御されている遺伝的形質であり、自家受粉では雌蕊と花粉との間の自他認識反応により自己花粉管の伸長と受精が特異的に阻害される。古典遺伝学的研究に基づいて、植物

ファミリー（科）ごとにそれぞれ異なる自家不和合性の遺伝機構が植物進化の過程において確立されてきたと考えられている。最近の数年間において、アブラナ科、ナス科、ケシ科などの植物種から自家不和合性遺伝子（S遺伝子）が同定され、自家不和合性の自他認識に関わる分子機構が明らかにされてきた。これら植物において見出されたS遺伝子の構造と生化学的機能はそれぞれ全く異なることから、植物ファミリー間で互いに独立的な自家不和合性機構の存在が裏付けられつつある。

自家不和合性における自他認識の分子機構がまだ明らかにされていないヒルガオ科、キク科、イネ科など多数の植物種において分子遺伝学的研究を展開することにより、新たな自家不和合性機構の発見と共に、植物の生殖・繁殖に関わる分子生物学的メカニズムの進化について更に理解を深めるのに貢献すると期待される。

2. 研究の目的

サツマイモ栽培品種は自家不和合性を有すると共に、特定の品種間交配では種子が全く得られないことから交配不和合性を示すいくつかの系統品種グループが存在することが、50年以上前から日本の研究者や育種家の間でよく知られていた。しかし、その遺伝的機構についてはまだ明らかではない。本研究は、ヒルガオ科に属するサツマイモ野生種の自家不和合性に関与する遺伝子を明らかにし、その分子機構を解明することを目的としている。これまでの研究において、(1) S遺伝子座に緊密に連鎖する数種類のDNA マーカーの同定ならびにそれらの精密な遺伝地図の構築、(2) 2種のSハプロタイプ(*Sl*, *Sl0*)について遺伝地図に基づくポジショナルクローニングとS遺伝子座をカバーするゲノムクローンのスクリーニング、(3) 得られたコスミドクローンのゲノムDNAの塩基配列解読、および(4) ノーザン分析による遺伝子の発現解析とcDNAクローンの塩基配列解析などが行われてきた。その結果、3種の柱頭特異的発現遺伝子(*SE1*, *SE2*, *SEA*)ならびに2種の葯・花粉特異的発現遺伝子(*AB2*, *AB3*)がS遺伝子候補として同定された。さらに、柱頭特異的S遺伝子候補についてRNAiコンストラクトを導入した形質転換体を作成し発現解析を行ったが、自家不和合性形質の変化は認められなかった。この形質転換体実験においては、RNAiによる発現抑制の程度が低いことや相同性蛋白質による補完作用などが原因として考えられた。これらの研究経過を踏まえ、本研究ではS候補遺伝子を絞り込むための最終段階の研究として、最劣性*S3*ハプロタイプと自家不和合性変異体*Sc*ハプロタイプについてS遺伝子座領域のゲノム解析を行うと共に、蛋白質レベルでの発現解析ならびにセンスコンストラクトを導入した遺伝子組換え植物における自家不和合性形質の発現解析を行った。

3. 研究の方法

(1) *S3*および*Sc*遺伝子座をカバーするゲノムクローンの単離と解析

自家不和合性変異系統 Mx2-15self (*ScSc*)の葉より高分子ゲノムDNAを単離し、末端修復を行った後に45kb近傍のDNA断片を回収し、コスミドベクター(EpiFos vector)にクローニングしてゲノミックライブラリーを構築した。この

ライブラリーを用い、S遺伝子座に緊密に連鎖する両末端のDNAマーカー(AAM-68並びにAF-41)を基点として染色体歩行を行い、*Sc*遺伝子座をカバーするゲノムクローンを単離した。得られたクローンを超音波処理により断片化し、プラスミドベクターにサブクローニングしてショットガンシーケンスを行うとともに、連結が困難であった箇所に関してはプライマーウォーキングによる連結を試みた。また、*S3*及び*S29*ハプロタイプのS遺伝子座周辺領域のゲノムコンティングに関しても同様に解析を行った。得られた配列情報について、既に得られている*Sl*および*Sl0*ハプロタイプのゲノム情報との比較解析を行った。

(2) *S3*及び*Sc*ハプロタイプにおけるS候補遺伝子の発現解析

新たに解析した*S3*及び*Sc*ハプロタイプのS候補遺伝子について発現動態を調査するため、決定したゲノム配列に基づいて各S候補遺伝子特異的なプライマーを設計し、S遺伝子ホモ型系統の開花1週間前および開花前日の葯と柱頭からmRNAを単離しcDNAを鋳型に用いてRT-PCRによる発現解析を行った。

(3) S候補遺伝子のコード蛋白質の分離精製

S候補遺伝子の翻訳産物についてタンパク質レベルでの研究を進めるため、*Sl*ハプロタイプの葯側S遺伝子候補*SlAB2*、ならびに柱頭側S遺伝子候補の*SlSE2*と*SlSEA*について、翻訳産物のN末端にGSTタグを、C末端にHis x6タグを付加したコンストラクトを作成しプラスミドpGEX 5X-3上に連結した。これらを大腸菌3株(*E. coli* XL-1 blue, Rosetta Gami, BL21)に各々形質転換し、大腸菌における組換えタンパク質の発現をSDS-PAGE法により調査した。

(4) S候補遺伝子産物のペプチド抗体の調製

*Sl*候補タンパク質*SlAB2*, *SlSE2*, *SlSEA*についてこれらの抗体を作成するために、各コードタンパク質の推定アミノ酸配列からエピトープを決定し、それぞれのペプチドを合成した。これらのペプチドを用い、ウサギに対し皮下・静脈注射により2度の免疫を行い、免疫後に全採血により抗血清を得た。得られたペプチド抗体を用いて、柱頭や葯における蛋白質発現をウェスタンブロッティングにより解析した。

(5) 形質転換体の作出と発現解析

柱頭側S遺伝子候補*SE2*, *SEA*、ならびに葯側S遺伝子候補*AB2*について、*Sl*ハプロタイプに由来するセンスコンストラクトを作成した(図1)。形質転換には*Sl0*ホモ型個体から誘導したEmbryogenicカルスを用い、アグロバクテリウム法により各コンストラクトを遺伝子導入した。次いで導入細胞組織の継代培養を行い、ハイグロマイシン耐性カルスの選抜と植物体の再分化

を行った。再分化した植物体において、PCR およびサザンブロット法により導入遺伝子の確認を行った。再分化個体のうち開花に至った *S1SE2* 形質転換体を用いて、導入遺伝子の発現を RT-PCR 法により調査した。さらに、形質転換体を柱頭親として、*S1* および *S10* 表現型花粉を受粉し、柱頭における自家不和合性の表現型変化を調査した。

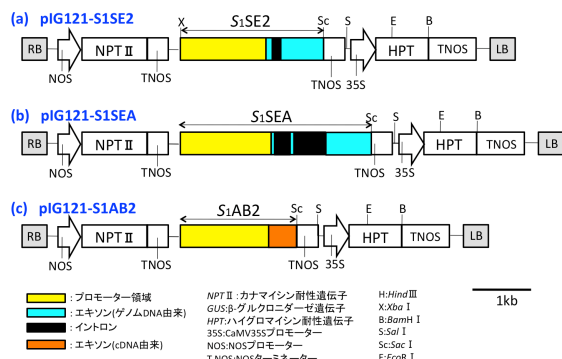


図 1. 形質転換に用いた 3 種の S 候補遺伝子のセンスコンストラクト

4. 研究成果

(1) S 遺伝子座領域のゲノム構造

新たにゲノム塩基配列を解析した 3 種の S ハプロタイプ (*S3*, *S29*, *Sc*) と既に解析されている *S1*, *S10* ハプロタイプとの間で S 遺伝子座領域のゲノム構造を比較検討した (図 2)。その結果、S 遺伝子座をカバーするゲノム領域のサイズは S 複対立遺伝子間の優劣性の順序に従い、 $S_{29} > S_1 > S_c > S_{10} > S_3$ であり、優性であるほど S 遺伝子座のゲノム領域サイズが大きいことが示された。とりわけ最も優性でサイズが大きかった *S29* ハプロタイプでは、*S29SE2* から *S29AB3* 遺伝子までの間の 60Kb に及ぶ領域には、ミトコンドリアゲノムと葉緑体ゲノムの各部分配列の挿入が認められた。これらのことは、劣性 S 遺伝子からより優勢な S 複対立遺伝子へと系統発生的に順次対立遺伝子が形成されたことを示唆しており、DNA 断片の挿入が S 遺伝子座の分化に寄与していると考えられる。さらに、調査した全ての S ハプロタイプにおいて *AAM-68* から *AB3* までのゲノム領域において遺伝子の相対的な位置関係が保持されていることが明らかになった。しかし自家和合性変異体の *Sc* 遺伝子座領域においては、S 候補遺伝子である *ScSEA*, *ScAB2*, *ScAB3* の重複が認められた。このうち *ScSEA* と *ScAB3* に関しては配列上の差異が認められたが、*ScAB2* では構造遺伝子部分が 100% 同一であった。また重複していた *ScAB2(1)* および *ScAB2(2)* 遺伝子のプロモーター領域において TATA box が (TA)₃₃ の重複配列としてマイクロサテライト化していることが認められた。さらに他のハプロタイプに存在する *SE2* 遺伝子は、解析した *Sc*

ハプロタイプのゲノム塩基配列中には見出されず、欠失している可能性が示唆された。これらのことから、自家不和合性から自家和合性への変異には、S 遺伝子座領域におけるゲノム DNA の重複または欠失が関わっていると推察された。今後、本変異体の遺伝的原因を明らかにするために、他のハプロタイプを用いて倍数体化や遺伝子導入により S 遺伝子を重複させた場合に自家和合性となるのかを検証すると共に、欠失遺伝子の追加導入により自家不和合性が回復するかを調べるなど更なる検証実験が必要である。

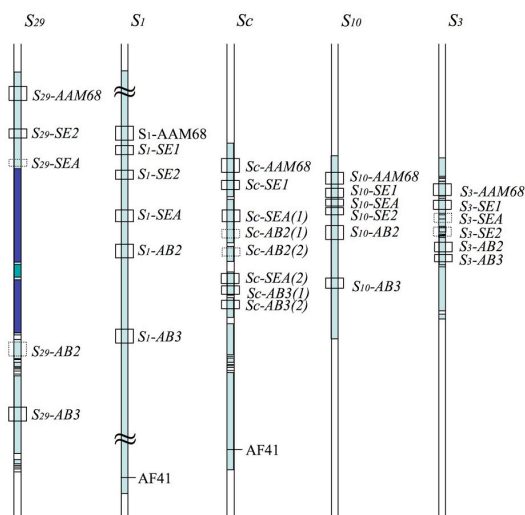


図 2. *S1*, *S3*, *S10*, *S29*, *Sc* ハプロタイプの S 遺伝子座領域のゲノム構造

S29 濃青色部分：ミトコンドリアゲノムの挿入領域
S29 緑色部分：葉緑体ゲノムの挿入領域
 水色部分：塩基配列が決定された領域

(2) S 候補遺伝子の組織特異的発現

S1, *S10*, *S29* ハプロタイプにおける遺伝子発現の解析から、S 候補遺伝子である *AB2* は開花 1 週間前の葯で、*SE2* および *SEA* は開花 1 週間前から開花前日の柱頭で特異的に発現していることがこれまでの研究から明らかにされている。本研究で新たにゲノム解析を行った *S3* 並びに自家和合性変異体 *Sc* ハプロタイプにおいても同様な発現が見られるかどうかを確認するため各 S 候補遺伝子の発現解析を行った (図 3)。その結果、*S3* ハプロタイプでは *S3AB2*, *S3AB3*, *S3SE2* の各遺伝子は、他の S ハプロタイプと同様の発現様式を示した。しかし *S3SEA* は開花 1 週間前の柱頭では発現が認められなかったが開花前日の柱頭で高い発現が検出された。一方、自家和合性系統の *Sc* ホモ型個体においては、葯特異的遺伝子である *ScAB2* 及び *ScAB3* の発現が、他の S ハプロタイプの発現と同様に開花 1 週間前の葯で強く発現していることが明らかとなった。このことから、遺伝子重複やプロモーター領域の TATA box の塩基配列異常は、これら遺伝子の発現に影響を及ぼしてはいないと推察され

た。しかしながら柱頭特異的遺伝子である *SE1*, *SEA* に関しては、*Sc* 変異体において① 開花 1 週間前に比べ開花前日での発現が強まっていること、② *ScSEA(2)* の発現が葯でも認められること、等の点が他の *S* 候補遺伝子と異なっていた。以上の点から、*Sc* 変異体が自家和合性を示す原因のひとつとして、*ScSEA(2)* 遺伝子の異所発現の可能性も考えられる。

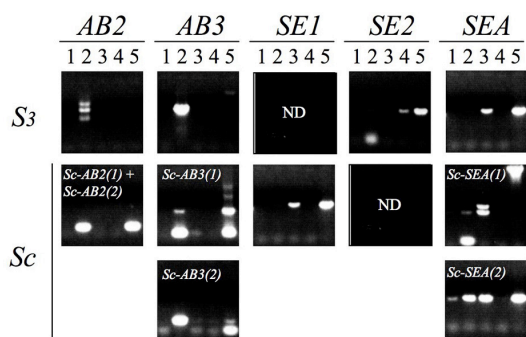


図 3. *S* 候補遺伝子の RT-PCR による発現解析
開花 1 日前 (1) と 1 週間前 (2) の葯 mRNA、開花 1 日前 (3) と 1 週間前 (4) の柱頭 mRNA、およびゲノム DNA (5) を鋳型に用いて、各遺伝子特異的プライマーで RT-PCR を行った (ND: 未検出)。

(3) *S* 候補遺伝子産物の誘導発現とその単離

柱頭 *S* タンパク質と花粉 *S* タンパク質の相互作用をタンパク質レベルで解析するために、大腸菌体内でこれらの *S* 候補タンパク質を合成し単離精製することを試みた。供試した遺伝子は、いずれも *S_I* 由来の柱頭および葯特異的遺伝子である (表 1)。これら遺伝子の中には alternative splicing による転写産物が確認されていることから、一部の *S* 候補遺伝子に関しては複数個の転写産物を発現ベクター (pGEX 5X-3) 上に構築した。これらのコンストラクトを用いてそれぞれ 3 種類の宿主大腸菌に導入した。また、N 末端の signal peptide を削除したコンストラクトについても大腸菌への形質転換に用いた。

発現誘導時の培養温度と時間、添加 IPTG 濃度等の発現誘導条件の検討を全クローンに対して行い、至適条件下で誘導処理を行った。その後、各大腸菌を加熱処理し、全タンパク質を変性させた状態で抽出して、各組換えタンパク質の生産を確認した (図 4)。完全変性条件下での抽出により、各組換えタンパク質の発現は確認できたが、その多くが inclusion body に取り込まれた不溶化状態で大腸菌細胞内に存在することが判明した。このため未変性条件下での抽出条件の検討、変性条件下での抽出とタンパク質の再生等を試みたが、活性のある形でのタンパク質の精製には至らなかった。

今後、無細胞翻訳系を利用して各 *S* 候補タンパク質を生産するために、遺伝子の再構築を行う予定である。最近、AB2 遺伝子と構造が

類似している Defensin-like proteins グループの cystein-rich polypeptide (CRP) が、トネリアの花粉管誘導物質として単離精製されている (Okuda et al., Nature 458:357-361, 2009)。彼らの実験系においては、不溶化タンパク質の変性・再構成に成功していることから、この実験方法を応用して AB2 遺伝子産物を単離精製することを検討したいと考えている。単離精製された AB2 タンパク質は、柱頭表面への塗布などにより花粉発芽のバイオアッセイに使うことができ、自他認識反応への関与を立証するのに有効な実験系となる。

表 1. 大腸菌への導入に用いた遺伝子コンストラクト

遺伝子	スプライシング型	シグナル配列	N 末 GST タグ	C 末 His x6 タグ	#
<i>S_I-AB2</i>		○	○	○	A
		×	○	○	C
<i>S_I-SE1</i>		×	○	○	I
<i>S_I-SE2</i>	Short	×	○	○	E
	Long	×	○	○	D
<i>S_I-SEA</i>	Short	○	○	○	B
	Short	×	○	○	F
	Medium	×	○	○	K
	Long	○	○	○	H
	Long	×	○	○	J
<i>S_I-SSP</i>			○	○	G

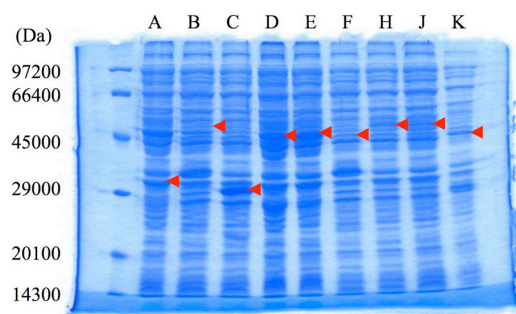


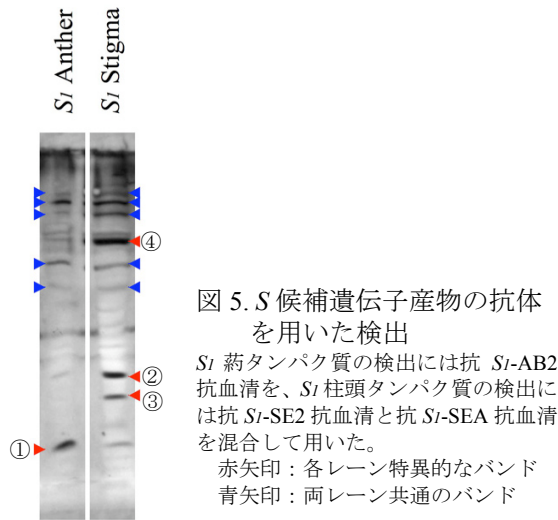
図 4. 大腸菌におけるタンパク質の誘導発現
赤矢印は誘導されたタンパク質のバンドを示す。
各レーンの記号は表 1 に示す # に対応している。

(4) 抗 *S* 候補遺伝子産物ペプチド抗体を用いた柱頭・葯における発現タンパク質の検出

各 *S* 候補タンパク質の部分ペプチドに対する抗体をウサギを用いて調製した。いずれのエピトープとも各 *S* 候補タンパク質の C 末端側に位置しており、*S* 遺伝子型間で比較的多型性のある親水性領域に由来するようにデザインした。得られた各抗血清を用い、*S_I* ホモ型系統の開花前日の雌雄生殖器官に存在する *S* 候補タンパク質の検出を試みた (図 5)。

調製した抗血清により、*S_I-AB2* タンパク質 (図 5 ①)、*S_I-SEA* タンパク質 (図 5 ②)、および *S_I-SE2* タンパク質 (図 5 ③) が確認された。その一方で、免疫したウサギ自身が有し

ていた抗体と反応したと思われるタンパク質のバンド (図 5 青矢印) も検出された。本抗血清を各種解析に利用するためには特異的抗体の精製が必須である。今後更なる実験条件の検討をしたいと考えている。



(5) *S* 候補遺伝子を導入した形質転換体における発現解析

アグロバクテリウム法により 3 つの遺伝子コンストラクトを導入したカルスからハイグロマイシン耐性の再分化個体が得られた。PCR およびサザン法による導入遺伝子の調査から、*S1*SE2、*S1*SEA および *S1*AB2 遺伝子が導入された独立の形質転換体は、それぞれ 14、1 および 1 系統であることが明らかとなった。これらのうち、開花に至った 2 個体の *S1*SE2 形質転換体 (TSE2-3 および TSE2-4) を用いて、導入遺伝子の発現を調査した。*S1*SE2 特異的プライマーを用いた RT-PCR の結果、導入した *SE2* 遺伝子はいずれの形質転換体でも柱頭特異的に発現していたが、その発現量は TSE2-4 に比べ TSE2-3 では低いことが示された。次に、これらの形質転換体を柱頭親に用いて自家不和合性形質の変化を調査す

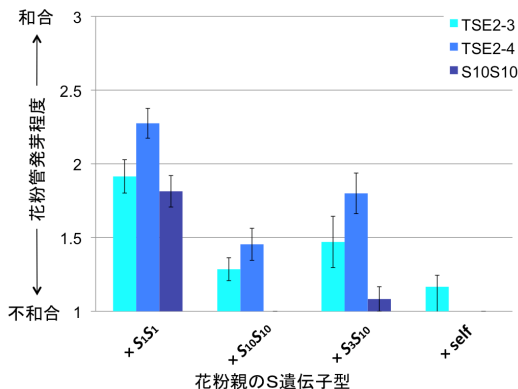


図 6. *S1*SE2 形質転換体 (TSE2-3, TSE2-4) を柱頭親に用いた受粉試験の結果

るため受粉試験を行った (図 6)。その結果、いずれの個体においても、*S10* 花粉を受粉した場合には、コントロールに比べ花粉発芽程度は相対的に低かったものの、花粉発芽および花粉管の伸長が認められた。一方、*S1* 花粉を受粉した場合には、非形質転換体と同程度またはそれ以上の花粉発芽が認められた。これらの結果は、*S1*SE2 形質転換体における柱頭の *S* 表現型は *S1* には変化しなかったものの、内生の *S10* 表現型に変化が生じたことを示している。したがって、*SE2* 遺伝子は柱頭の自家不和合性表現型に影響を与えることが明らかとなった

(6) 総括と展望

以上、本研究の成果として、ヒルガオ科植物における自家不和合性遺伝子座のゲノム領域が決定され、その領域に位置する柱頭特異的遺伝子と葯特異的遺伝子が明らかにされた。これらの *S* 候補遺伝子産物のうち、柱頭特異的遺伝子である *SE2* と *SEA* は、膜貫通タンパク質であると推定されるが既知のタンパク質との相同性が認められていない新規のタンパク質であると考えられる。また葯特異的遺伝子である *AB2* は defensin-like proteins のグループに属しているが、アブラナ科の花粉 *S* 遺伝子である SP11/SCR とは構造的に若干の差異が認められている。これらのことから、ヒルガオ科の自家不和合性には今までに報告されていない新たな分子機構が働いていると考えられる。これらの研究成果を基にして、ヒルガオ科の自家不和合性システムに関与する自他認識反応とその下流の花粉発芽抑制機構について今後更なる研究の発展が期待される。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 6 件)

- ① [Kakeda K., Tsutsumi M. and Kowayama Y.](#) Deletion mutations of the self-incompatibility (*S*) locus induced by gamma irradiation in a wild diploid species of sweet potato, *Ipomoea trifida*. JARQ: in press (2009) 査読有
- ② [Kakeda K., Urabayashi T., Ohashi T., Oguro T. and Kowayama Y.](#) *Agrobacterium*-mediated transformation of *Ipomoea trifida*, a diploid relative of sweet potato. Breed. Sci. 59: 95-98 (2009) 査読有
- ③ [Kakeda K., Ibuki T., Suzuki J., Tadano H., Kurita Y., Hanai Y. and Kowayama Y.](#) Molecular and genetic characterization of the *S* locus in *Hordeum bulbosum* L., a wild self-incompatible species related to cultivated barley. Mol. Genet. Genomics 280: 509-519 (2008) 査読有
- ④ [Taketa S., Amano S., Tsujino Y., Sato T., Saisho](#)

- D., Kakeda K., Nomura M., Suzuki T., Matsumoto T., Sato K., Kanamori H., Kawasaki S., Takeda K. Barley grain with adhering hulls is controlled by an ERF family transcription factor gene regulating a lipid biosynthesis pathway. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 105: 4062-4067 (2008) 査読有
- ⑤ Rahman H., Tsuchiya T., Suwabe K., Kohori J., Tomita R., Kagaya Y., Kobayashi I., Kakeda K. and Kowyama Y. Physical size of the *S* locus region defined by genetic recombination and genome sequencing in *Ipomoea trifida*, Convolvulaceae Sexual Plant Reproduction. 20:63-72. (2007) 査読有
- ⑥ Rahman H., Uchiyama M., Kuno M., Hirashima N., Suwabe K., Tsuchiya T., Kagaya Y., Kobayashi I., Kakeda K. and Kowyama Y. Expression of stigma- and anther-specific genes located in the *S* locus region of *Ipomoea trifida*. Sexual Plant Reproduction. 20:73-85. (2007) 査読有

[学会発表] (計 9 件)

- ① 掛田克行・大岸康佑・石濱裕子、オオムギ野生種における *S* ハプロタイプ間の比較ゲノム解析. 日本育種学会、2009 年 3 月 28 日、つくば国際会議場
- ② 清水匡史・堀口修吾・石原倫光・掛田克行、遺伝子導入法を用いたオオムギ皮裸性関連遺伝子の解析. 日本育種学会中部地区談話会、2008 年 11 月 29 日、名城大学農学部
- ③ 大岸康佑・掛田克行、オオムギ野生種における *S* 候補遺伝子周辺ゲノム領域の塩基配列解析. 日本育種学会中部地区談話会、2008 年 11 月 29 日、名城大学農学部
- ④ 石原倫光・清水匡史・掛田克行・武田真、オオムギ皮裸性遺伝子 (*Nud*) を導入した形質転換イネの解析. 日本育種学会、2008 年 10 月 11 日、滋賀県立大学
- ⑤ 掛田克行・大岸康佑、オオムギ野生種の *S* 遺伝子座周辺ゲノム領域の分子的解析、日本育種学会、2008 年 10 月 11 日、滋賀県立大学
- ⑥ Kowyama Y., Tsuchiya T. and Kakeda K., Genomic organization of the sporophytic self-incompatibility locus in *Ipomoea trifida*, a close relative of sweet potato. 20th International Congress on Sexual Plant Reproduction, 2008 年 8 月 5 日, Brasilia, Brazil
- ⑦ 掛田克行・栢部健人、オオムギ野生種の *S* ハプロタイプ特異的タンパク質の解析. 日本育種学会、2008 年 3 月 29 日、明治大学農学部

- ⑧ 大岸康佑・栢部健人・掛田克行、オオムギ野生種における *S* 候補遺伝子およびその周辺ゲノム領域の解析. 日本育種学会中部地区談話会、2007 年 12 月 1 日、信州大学農学部
- ⑨ 神山康夫・M. H. Rahman・高北英治・谷口理・掛田克行・土屋 亨、サツマイモ野生種の *S* ハプロタイプ間におけるゲノム配列多型性と優劣性関係、日本育種学会、2007 年 9 月 23 日、山形大学農学部

[図書] (計 2 件)

- ① Kowyama, Y., Tsuchiya, T. and Kakeda, K. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, Molecular genetics of sporophytic self-incompatibility in *Ipomoea*, a member of the Convolvulaceae. In: *Self-Incompatibility in Flowering Plants - Evolution, Diversity, and Mechanisms.* (ed. Franklin-Tong, V.E.) 2008, pp 259-274.
- ② Watanabe, M., Endo, M., Hakozaiki, H., Masuko, H., Park, J-I., Kawagishi-Kobayashi, M., Tsuchiya, T. CRC Press, Gene expression analysis with DNA array technology in Legumes. In: *Handbook of New technologies for genetic improvement of legumes.* (ed. Kirti P.B.), 2008, pp467-476.

[その他]

ホームページ (研究成果データベース)

<http://miuse.mie-u.ac.jp:8080/items-by-author?autor=Kowyama,+Yasuo>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

神山 康夫 (KOWYAMA YASUO)
三重大学・大学院生物資源学研究所・特任教授
研究者番号：80024579

(2) 研究分担者

掛田 克行 (KAKEDA KATSUYUKI)
三重大学・大学院生物資源学研究所・准教授
研究者番号：50221867

土屋 亨 (TSUCHIYA TOHRU)
三重大学・生命科学支援センター・准教授
研究者番号：30293806