

令和 4 年 5 月 17 日現在

機関番号：14101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K05969

研究課題名(和文) アブラナ科野菜の穂発芽原因遺伝子の解明

研究課題名(英文) Analysis of genes responsible for preharvest sprouting in Brassicaceae

研究代表者

加賀谷 安章 (Kagaya, Yasuaki)

三重大学・地域イノベーション推進機構・准教授

研究者番号：20335152

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)：日本では、アブラナ科野菜の採種時期は梅雨と重なるため、高い頻度で穂発芽が発生し、種苗業界では深刻な問題となっている。本研究では、アブラナ科の穂発芽の原因遺伝子を同定するために、遺伝学および分子生物学的解析を行った。ゲノム解析、遺伝子発現解析およびプロモーター発現解析によりアブラナ科野菜では、胚成長停止制御因子IAA30のプロモーターに普遍的な変異が生じていることを見出した。この変異が、アブラナ科野菜で穂発芽が生じる品種が多発する主要な原因であることが示唆された。さらに加えて、アブラナ科野菜の穂発芽は母性効果により生じ、母性効果で穂発芽をもたらす複数のQTLの存在を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アブラナ科野菜の穂発芽の研究はこれまでほとんど行われていない。本研究では、アブラナ科野菜に共通して存在する胚成長停止制御因子の普遍的な変異と母性効果で作用する複数のQTLを見出した。本研究は、双子葉植物での種子休眠の確立と穂発芽の発生原因における新知見を提供するとともに、穂発芽を防ぐための新採種技術確立のための情報基盤として波及できる。

研究成果の概要(英文)：In Japan, because seeds of Brassicaceae are harvested during the rainy season, high frequency of preharvest sprouting is a serious problem in the seed industry. In this study, we performed genetic and molecular analyses for preharvest sprouting to elucidate the responsible genes in Brassicaceae. Genomic, gene expression, and promoter expression analyses revealed the conserved mutations in the promoters of the embryo growth arrest regulator IAA30 in Brassicaceae. These mutations were suggested to be responsible for the high incidence of preharvest sprouting in Brassicaceae. Furthermore, we found that preharvest sprouting in Brassicaceae is caused by maternal effects regulated via multiple QTLs.

研究分野：植物分子遺伝学

キーワード：穂発芽 休眠 アブシシン酸 オーキシン 転写 アブラナ科野菜

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

アブラナ科野菜の日本での採種時期は梅雨と重なるため、高い頻度で穂発芽が発生し、種苗業界では深刻な問題となっている。穂発芽とは、収穫前に実った種子から芽が出てしまう現象で、種子の収量減少や新品種作出時の障害などの原因となる。しかしながら、アブラナ科野菜の穂発芽原因遺伝子についての先行研究は無く、穂発芽しにくいアブラナ科野菜の育種法についての知見は全く明らかになっていない。

2. 研究の目的

アブラナ科野菜の穂発芽原因遺伝子の解明に向けて、申請者は、アブラナ科野菜と祖先を共通とするモデル植物シロイヌナズナでの種子休眠および胚の成長停止に関与する遺伝子の変異体の組み合わせによる解析から、胚成長停止に関わる IAA30 と種子休眠の ABA 感受性に関わる ABI3 の二重変異が穂発芽性を示すを明らかにしている。そこで、「穂発芽性を示すアブラナ科野菜も IAA30 と ABA 関連の 2 つの独立した経路に遺伝的欠損がある」という独自の仮説に基づき、本申請研究では、アブラナ科野菜に存在が予想される 2 つの経路の穂発芽原因遺伝子を明らかにし、さらに穂発芽しにくい品種の持つ穂発芽抑制遺伝子を明らかにして、穂発芽しにくいアブラナ科野菜の育種法を確立する。

3. 研究の方法

以下の 2 つのアプローチからアブラナ科野菜の穂発芽原因遺伝子の特定を試みた。

(1). アブラナ科野菜のゲノム情報をもとに IAA30 遺伝子の変異の同定とシロイヌナズナの系を用いた IAA30 の発現調節メカニズムの解析から、アブラナ科野菜での IAA30 の変異の特定を試み、穂発芽原因遺伝子であることを解明する。

(2). 穂発芽性および非穂発芽性のキャベツおよびハクサイの品種を入手して、その交配後代での遺伝分析による遺伝特性の解析と、次世代シーケンサーを用いた QTL 解析により、原因遺伝子の座乗領域の特定を試みた。

4. 研究成果

モデル植物のシロイヌナズナの研究で得られた知見を基にした分子生物学的解析とアブラナ科野菜のキャベツとハクサイの穂発芽性を示す系統の遺伝学的解析より以下のことを明らかにした。

(1). アブラナ科野菜のキャベツとハクサイのゲノム情報を解析し、両種ゲノムにそれぞれ 3 種類存在する IAA30 遺伝子のプロモーターではいずれもシロイヌナズナでの種子特異的発現を制御するオーキシン応答性シスエレメント、アブシジン酸応答性シスエレメントおよび CAAT box 周辺配列のいずれかに、シロイヌナズナの IAA30 と比較して変異が生じていることを見出した。そこで、キャベツおよびハクサイの種子での IAA30 の mRNA の発現レベルを解析した結果、いずれも 3 種類の IAA30 発現が著しく低下することが見出された。さらに、プロモーター中のシスエレメントの変異が原因で種子での IAA30 発現が著しく低下することを明らかにするため、キャベツ IAA30 プロモーター::レポーター遺伝子 GUS を導入した形質転換シロイヌナズナおよびシロイヌナズナの IAA30 プロモーターにキャベツで変異しているシスエレメントの変異を導入したレポーターを導入した形質転換シロイヌナズナを作成して解析した。その結果、いずれのレポーター系統でもシロイヌナズナの野生型プロモーター系統より著しい発現低下が観察された。したがって、アブラナ科野菜で穂発芽する系統が多発する主要な原因は、IAA30 プロモーターが発現制御能力を喪失する共通変異を潜在的に有していることが原因である可能性が強く示唆された。さらに、アブラナ科野菜の栽培化での低休眠性形質の選抜過程で、IAA30 プロモーターの変異が優先的なターゲットになったことが強く示唆された。

(2). キャベツの穂発芽性系統 2 品種と非穂発芽性系統の交配 F1 より得られた穂発芽した F2 種子の集団をから精製したゲノム DNA を用いて次世代シーケンサーを用いた QTL 解析を行った。その結果、穂発芽系統の 2 品種ともに、第 9 染色体に QTL を検出した。原因遺伝子を同定するために多数の F2 で絞り込み試みたが、第 9 染色体の 30 Mbp の領域までしか絞り込むことができなかった。したがって第 9 染色体に胚の低休眠性をもたらず複数の QTL が座乗していることが示唆された。

(3). 遺伝分析より、キャベツおよびハクサイの穂発芽は母性効果で生じることが新たに見出された。そこで、母性効果で穂発芽を生じさせる原因遺伝子の同定を試みた。ハクサイの世代促進栽培系を確立して、ハクサイの穂発芽系統と非穂発芽系統の F2 を作成して、これらに、両系統に和合性の系統を花粉親として交配して得られた F3 の表現型解析より母性効果で穂発芽させる原因遺伝子をホモで持つ F2 個体を選抜した。選抜された個体群と両親で GRAS-Di 解析を行った

結果、穂発芽系統ホモ型が濃縮される領域を複数見出した。したがって、母性効果で作用する穂発芽原因遺伝子は複数の QTL に支配されていることが示唆された。

上記の分子生物学的手法と遺伝学的手法により得られた結果を総括すると、アブラナ科野菜に普遍的な IAA30 のプロモーター変異と母性効果で作用する複数の QTL に支配されている原因遺伝子の組み合わせが主要な原因となり、アブラナ科野菜の穂発芽が生じていることが強く示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Suwabe Keita, Nagasaka Kaori, Windari Endang Ayu, Hoshiai Chihiro, Ota Takuma, Takada Maho, Kitazumi Ai, Masuko-Suzuki Hiromi, Kagaya Yasuaki, Yano Kentaro, Tsuchimatsu Takashi, Shimizu Kentaro K., Takayama Seiji, Suzuki Go, Watanabe Masao	4. 巻 11
2. 論文標題 Double-Locking Mechanism of Self-Compatibility in Arabidopsis thaliana: The Synergistic Effect of Transcriptional Depression and Disruption of Coding Region in the Male Specificity Gene	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Plant Science	6. 最初と最後の頁 1-8
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fpls.2020.576140	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 -
1. 著者名 Endang Ayu Windari, Mei Ando, Yohei Mizoguchi, Hiroto Shimada, Keima Ohira, Yasuaki Kagaya, Tetsuya Higashiyama, Seiji Takayama, Masao Watanabe, Keita Suwabe	4. 巻 38
2. 論文標題 Two aquaporins, SIP1;1 and PIP1;2, mediate water transport for pollen hydration in the Arabidopsis pistil.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Plant biotechnology	6. 最初と最後の頁 77 87
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.5511/plantbiotechnology.20.1207a	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 -

〔学会発表〕 計0件

〔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
研究分担者	諏訪部 圭太 (Suwabe Keita) (50451612)	三重大学・地域イノベーション学研究所・教授 (14101)	

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