

令和 4 年 6 月 4 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K05971

研究課題名(和文) オオムギの芒が葉に転換する変異体の遺伝生理学的解析

研究課題名(英文) Genetic analysis of a leafy lemma mutant in barley

研究代表者

武田 真 (Taketa, Shin)

岡山大学・資源植物科学研究所・教授

研究者番号：40216891

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：オオムギのleafy lemma突然変異体は3つの遺伝子が揃って葉状化する表現型が現れることを、交雑実験により解明した。そのうち1つは4H染色体長腕に座乗する短芒遺伝子lks5であり、イネのOsMADS1 /LHS(leafy hull)遺伝子のオーソログであることを解明した。また、残りの2遺伝子は4H染色体長腕のlks5よりもさらに端部に位置すること、また、3遺伝子目は2H染色体長腕に位置することを遺伝マッピングによりこれまでに明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

オオムギの芒は穂先の針状器官で、種子が鳥獣害を受けるのを防ぐのみならず、オオムギでは葉緑素を多量に蓄積し、活発に光合成を行う重要な同化器官である。芒はイネ科に固有の器官で、他の植物にはみられないことから、世界的に重要な作物であるオオムギで芒の役割を研究する意義は大きい。芒は本来は葉が転換して生じた器官と考えられ、その進化的な発生源を解明するのに、芒が葉に先祖返りした、leafy lemma突然変異体の解析は意義が大きいと考える。

研究成果の概要(英文)：A leafy lemma mutant of barley was dissected by positional cloning approaches. We clarified that three genes are involved in its drastic conversion of awns to the leafy lemmas. Positional cloning approaches in combination with barley genome sequence data clarified causal genes (a total of three).

研究分野：遺伝育種科学

キーワード：イネ科作物 芒 光合成 種子

1. 研究開始当初の背景

オオムギの穂先の突起である芒は、イネ科固有の器官で、葉が変形してできたと考えられる。芒は鳥獣害を防ぐ他、オオムギでは発達した構造で葉緑素を蓄積し、光合成を活発に行い、収量に貢献する有用な器官である。オオムギでは芒の光合成が収量の10-30%を占めるとの推定がある。しかし、芒の組織学的な起源やその発生分子メカニズムには不明な点が多い。

研究代表者はイネ科作物で芒の長さを決定する遺伝子 *lks2* をマップベース法により世界に先駆けてオオムギから単離した。この遺伝子座の正常型 *Lks2* が SH1 (short internode) 転写因子をコードすること、突然変異して機能を失うと芒の細胞分裂が低下することで約 1/4 から 1/2 に短芒化することが判明した。さらに、突然変異アレル *lks2a* および *lks2b* アレルは同一箇所内の同一の 1 アミノ酸置換によるもので芒を半分程度に短縮するものの雌ずい毛には悪影響が少ないマイルドな突然変異であり、そのために自然淘汰を生き延び農業的に活用されているみられることを解明した。さらに、*lks2* の人為的に誘発された機能的に重要なモチーフのアミノ酸残基が変化するシビアな突然変異アレルは雌ずいの柱頭毛を著しく減じ、授粉異常が起こり種子の稔実が低下することを解明した。成果は 2012 年に英国の国際誌に発表し、これがイネ科作物で芒長を決定する遺伝子の最初の報告として広く認知されている。

本研究は申請者の 2012 年の先行研究を発展させて、「芒が葉からどのように起源したか」という植物器官発生の根源的な問いを解明するため、葉が芒に先祖返りした“leafy lemma”突然変異体に着目し、分子遺伝学ならびに組織形態学の観点から解明を進めるものである。研究開始時に、ドイツの IPK 研究所に同じ突然変異体に関心を持つ競合相手がいることが判明した。そのため、私のグループによる研究データが論文化されるまでは機密保持を厳重に図りつつ迅速に研究を遂行する必要がある状況が続いている。

2. 研究の目的

本研究では、オオムギにおいて、芒が葉に先祖返りした突然変異体である葉状外穎変異体 (leafy lemma) の原因遺伝子を分子遺伝学的に特定し、その機能を解明し、葉が芒に転換する機構を解明することを目的とする。

3. 研究の方法

オオムギ leafy lemma を短芒系統 *lks5* と交配した F2 集団を約 5,000 個体圃場に展開した。葉状芒変異体 leafy lemma 変異体はこれまでの遺伝学的解析から *lks5* に加えて他に 2 遺伝子が揃って発現することが我々の研究で判明している。そのため、上述の F2 集団では 1/16 の確率で leafy lemma 個体が出現するとみられる。圃場での観察により leafy lemma 個体を識別した。各個体の葉をサンプリングし、DNA を常法により抽出した。葉状芒変異体 leafy lemma の発現に係わる残りの 2 遺伝子の有力な候補遺伝子をマップベースクローニング法により絞り込みを進めた。

4. 研究成果

オオムギ leafy lemma は 3 因子が関与するとみられるが、1 番目の因子である *lks5* ホモの遺伝的背景で、残りの 2 遺伝子が分離する実験系を利用し、合計約 5 千個体からなる分離集団を 2 年かけて圃場に展開し、詳細に穂形態を調査した。葉化した芒の表現型を示す個体は、独立に分離する 2 遺伝子の劣性ホモの出現確率である $(1/4) \times (1/4) = 1/16$ の頻度で発現することを確認した。二重劣性ホモが初年度は 187 個体、2 年度は 245 個体の合計 432 個体出現した。これらの個体より個別に DNA を抽出し、PCR マーカーで両遺伝子を個別にマッピングした。さらに、4HL 端部-*lel* 因子と 2HL-*lel* 因子とがそれぞれ 1 遺伝子分離する遺伝実験集団で詳細なマッピングを行い、2HL-*lel* 因子については、有力な候補遺伝子が見つかった。

オオムギの leafy lemma 突然変異体の芒が葉状化する表現型が現れるために必要な遺伝子の 1 つは、4H 染色体長腕に座乗する短芒遺伝子 *lks5* である。本研究により、*lks5* はイネの *OsMADS1/LHS* (leafy hull) 遺伝子のオオムギオソログであることを解明した。また、残りの 2 番目の遺伝子は 4H 染色体長腕上で *lks5* よりもさらに端部に位置することを解明した。また、最後の 3 遺伝子目は 2H 染色体長腕に位置することを遺伝マッピングによりこれまでに明らかにした。これまでの遺伝マッピングにより、4HL 端部の 2 番目の遺伝子ならびに 2HL 長腕に位置する 3 番目の芒の葉状化に関わる遺伝子の絞り込み、有力な候補遺伝子を見出した。

オオムギ leafy lemma は二条オオムギ品種 Bowman の遺伝的背景で養成された準同質遺伝子系統の他に、海外研究者から 2 系統を分譲頂き、圃場で形態観察した。その結果、BM38 (米国遺伝資源ストックセンターアイダホ州) 由来はアントシアニンが株元や

穂で強く発現した。これに対して、イタリアの Michele Stanca 教授より分譲して頂いた系統 BM40 はアントシアニン着色がほとんど認められなかった。これら 2 系統を交雑した F1 雑種は leafy lemma 表現型を示したことから、両系統が保有する leafy lemma 遺伝子は 3 遺伝子座とも同一とみられる。研究代表者が保有する独立の leafy lemma3 系統はこの形質発現に関与する 3 遺伝子座の特定と実証に重要な遺伝子源となると考えられる。



BM 40

BM 38

細葉、晩生、葉鞘少し紫縦線入

広葉、早生、葉鞘濃紫

Leafy Lemma 1, 2016-12-18

lell.a in G7118 (GSHO 1780)2016-12-15

Dr. Michele Stanca CREA-GPG Firenzoiva&7 ARDA

USDA, Dr. H. Bockelman

図 1 . オオムギ leafy lemma 突然変異体 2 系統の分けつ期の形態。

オオムギ品種 Bowman の遺伝的背景で養成された leafy lemma の小穂および穂の表現型を図 2 に示す。この材料の分子遺伝学的解析により、葉状芒に関与する 3 遺伝子の有力な候補遺伝子を解明することができた。今後はさらに研究を進め、3 遺伝子がどのように相互作用し、芒から葉への祖先返りが起こるかの機構を細胞組織学的に解明する予定である。

葉状芒に係る 3 遺伝子のうち 1 遺伝子 (lks5) は原因遺伝子が完全に解明できた。オオムギ lks5 遺伝子は 20 種類以上の独立突然変異体 (アレル) を解析し、遺伝子配列の解析から全てにアミノ酸置換をもたらす塩基置換が認められ、lks5 遺伝子の原因遺伝子であることを示す十分な証拠が揃っている。オオムギ lks5 遺伝子が異常になると芒が正常型の 1/4 程度に短縮するだけでなく、芒の形態が通常の三角形から楕円形に変化する興味深い形態変異が生じることを認めた。

葉状芒に係る残る 2 遺伝子は有力な候補遺伝子が本研究で絞り込めた。今後に残された重要課題は 3 遺伝子がどのような遺伝子相互作用を行い、leafy lemma という劇的な芒から葉への器官の転換が起こるかをタンパク質や植物ホルモンなどの生化学的かつ形態学的レベルで解明することと考えている。



図 2 . オオムギ品種 Bowman の遺伝的背景での leafy lemma 突然変異体の形質発現。左：原品種 Bowman および leafy lemma 突然変異体の小穂の拡大画像。矢印 (水色) は外穎から葉状芒への転換点を示す。

右：品種 Bowman および leafy lemma 突然変異体の穂。突然変異体では葉状化に伴い、芒が短縮していることがわかる。

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 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Taketa, S., Hattori, M., Takami, T., Himi, E and W. Sakamoto	4. 巻 62
2. 論文標題 Mutations in a Golden2-like gene cause reduced seed weight in barley albino lemma 1 mutants	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Plant and Cell Physiology	6. 最初と最後の頁 1-11
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/pcp/pcab001	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 -

1. 著者名 Hibara, K-I., Miya, M., Benvenuto, S.A., Hibara-Matsuo, N., Mimura, M., Yoshikawa, T., Suzuki, M., Kusaba, M., Taketa, S., Itoh, J.	4. 巻 17(5)
2. 論文標題 Regulation of the plastochron by three MANY-NODED DWARF genes in barley.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLoS Genetics 17(5): e1009292 (2021)	6. 最初と最後の頁 e1009292
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1270./jsbbr.21.W04	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

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 武田 真・服部桃子・高見常明・坂本 亘
2. 発表標題 オオムギ白穎(albino lemma 1)変異は、GLK2転写因子の異常で引き起こされ、種子重を低下させる
3. 学会等名 日本育種学会第139回講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 桧原 健一郎・味谷雅之・桧原(松尾)直子・三村真生・吉川貴徳・スズキマサル・草場 信・武田 真・伊藤 純一
2. 発表標題 オオムギ多節矮性変異体を用いた葉間期制御に関わる3遺伝子座の同定
3. 学会等名 日本育種学会第139回講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 武田 真・五月女敏範・吉川貴徳
2. 発表標題 オオムギ内穎裂開突然変異体の解析
3. 学会等名 日本育種学会第140回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 武田 真・白神美津穂・大関美香・五月女敏範
2. 発表標題 オオムギ丸粒突然変異体の遺伝解析
3. 学会等名 育種学研究24 (別1) 97. 2022年3月20日。オンライン開催。日本育種学会第141回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Shin Taketa, Momoko Hattori, Tsuneaki Takami, Eiko Himi and Wataru Sakamoto
2. 発表標題 Barley albino lemma 1 mutations reduce spike photosynthesis and seed weight
3. 学会等名 International Society for Seed Science (ISSS) August12, 2021, Kew UK, On-line Conference. (国際学会)
4. 発表年 2021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
---------	---------