

令和 5 年 6 月 9 日現在

機関番号：32658

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K06037

研究課題名(和文) レタスの結球に関わる遺伝因子の同定およびその育種利用

研究課題名(英文) Identification of genetic factors involved leaf heading in lettuce

研究代表者

小松 憲治 (KOMATSU, Kenji)

東京農業大学・農学部・准教授

研究者番号：90594268

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)：結球レタスの集団の中から、遺伝的要因により突発的に非結球型の個体が発生する現象が確認されている。この非結球化現象は大きく2つに分けられ、集団で維持される系統の中から突発的に発生するケースと、玉レタスの後代分離集団において発生するケースが確認されている。保有するレタス遺伝資源を対象に解析を行った結果、前者はレタスの結球性に関与する既知の2つの主要遺伝子の1つであるLsKN1の遺伝型が非結球型に変化することで非結球になることがわかった。一方で、後者は未報告の2つの遺伝子座が共に非結球型を取ることで非結球になることがわかった。現在、この2つの遺伝子座のファインマッピングを進めている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

非結球化、不完全な結球を引き起こす遺伝因子の意図しない混入は、玉レタス品種を育種する上で避けることが望ましい。非結球化に関わる遺伝子座が明らかになることでDNAマーカーを用いた遺伝型の判別が可能になり非結球因子を除くことが可能になる。一方で、非結球に関わる遺伝因子が明らかになったことで、今後、結球の程度を調節するような育種を行う上で考慮すべき遺伝子座が明らかになることの意義は大きいと考える。

研究成果の概要(英文)：A phenomenon has been observed in populations of heading lettuce where non-heading individuals sporadically occur due to genetic factors. This non-heading phenomenon can be categorized into two cases: one where it sporadically occurs within lineages maintained as a heading population, and another where it occurs in segregating populations derived from two heading lettuces as parents.

In the former case, we found lettuce to be non-heading when the genotype of LsKN1, one of the two major genes known to be involved in lettuce leaf heading, was non-heading genotype. On the other hand, it has been discovered that in the case of the latter, two unknown genetic loci contribute to the non-heading phenotype. We have identified the approximate positions of these two genetic factors.

研究分野：植物分子育種学

キーワード：レタス 結球性

1. 研究開始当初の背景

結球型レタス(玉レタス)の集団の中から、遺伝的要因により突発的に非結球型の個体が発生する現象が存在する。本報告書内では便宜上、これを「遺伝的非結球化現象」と呼ぶ。品種育成過程、また完成品種の種子生産段階において遭遇する現象として、レタス育種関係者の間で問題視されている。この現象の発生パターンは、以下の2つのケースに分けられる。1つは自殖を繰り返しても結球型しか現れない遺伝的に異なる2種の玉レタスを交配させた場合に、その後代分離集団において一定の割合で非結球個体が現れるケースである。両親が持つ2つの潜性遺伝子が合わさることで非結球化すると考えられる。我々が病害抵抗性に関わる遺伝因子を同定することを目的に育成した遺伝集団において本ケースに遭遇した。もう一方は、集団で維持される系統の中から突発的に非結球個体が発生するケースである。集団の中で潜在的に維持される非結球遺伝子がホモ化した際に発生すると考えられる。当ケースは、量産種子の特定ロットにおいて発生する場合がある。販売後に生産者からの指摘で発覚するケースもあり、問題視されている。葉菜類の結球現象については、古くから生理学的研究がなされているものの、その分子機構については不明な点が多い。

2. 研究の目的

現代の農業において形質の均一性は、その品種の価値を決定付ける重要な要素である。結球性葉菜類(キャベツ、ハクサイ、レタス等)において非結球個体が発生することが判明した品種は、その価値が大きく毀損される。本研究では「遺伝的非結球化現象」が生じたレタス系統に対する解析から、非結球化に関わる遺伝子座の同定を試みた。これにより、レタス育種素材中から非結球化に繋がる潜在的な遺伝因子の排除を可能にする技術が確立されることが期待される。加えて、これまで未解明であった結球現象に関わる分子機構の一端が明らかになると考える。

3. 研究の方法

(1) 集団維持系統の中から突発的に非結球個体が発生するケース

研究協力者から入手した、突発的に発生した非結球個体を親とした後代分離集団(F2)を育成し、バルクシーケンシング法の1種であるQTLシーケンシング法により非結球因子が座上する大凡の染色体上の位置の特定を試みた。

(2) 異なる2種の玉レタスの後代分離集団において発生するケース

非結球個体の出現が確認されていた分離集団を対象にQTLシーケンシング法により非結球因子が座上する大凡の染色体上の位置を特定するとともに、トランスクリプトーム解析から非結球個体と結球個体の発現変動遺伝子(DEGs)の特定を試みた。

4. 研究成果

(1) 集団維持系統の中から突発的に非結球個体が発生するケース

F2集団における分離比から単一の潜性遺伝子が原因で非結球化が生じていることが示唆された。QTLシーケンシング法による解析からレタスゲノム ver.8のLG7に強い連鎖性が見いだされた。この遺伝子座を $qNLH7$ と命名し原因遺伝子の特定を進めた。特定を進めている中、华中農業大学のグループによってレタスの結球性に関与する2つの主要遺伝子座が報告された(Yu et al., PNAS, 2020)。同グループは報告の中で、結球性に関わる2つの遺伝子座($LHL1$, $LHL2$)を見出しており、そのうち $LHL2$ 遺伝子座について原因遺伝子 $LsKN1$ を同定し、 $LsKN1$ に関する詳細な解析が行われていた。 $LHL2$ 遺伝子座は、我々がゲノム解析で同定した $qNLH7$ と位置が酷似しており、解析に用いている非結球株は $LsKN1$ が原因で非結球化していると考えられた。そこで、 $LsKN1$ の遺伝型が検出可能なPCRマーカーを設計し、解析に用いた非結球系統に対し $LsKN1$ の遺伝型の分析を行ったところ、 $LsKN1$ の遺伝型が非結球型であった。他の非結球系統についても $LsKN1$ の遺伝型を調べたところ、いずれも $LsKN1$ の遺伝型が非結球型であったことから、非結球化をもたらす主要因子、また結球化に関わる主要遺伝子の1つが $LsKN1$ であることが示唆された。結球型レタスの $LsKN1$ には、プロモーター活性のあるトランスポゾンが挿入され、それにより $LsKN1$ が高発現することで結球する。そのため、突発的に発生する非結球個体では、突発的に生じた非結球個体は、このトランスポゾンが転座することで非結球化した可能性が示唆された。

(2) 異なる2種の玉レタスの後代分離集団において発生するケース

F2集団における分離比から、掛け合わせに用いた両親に由来する2つの潜性遺伝子が原因で非結球化が生じていることが示唆された。QTLシーケンシング法による解析から、両親のゲノムにそれぞれ1カ所、計2カ所に強い連鎖性が見いだされた(未発表データであるため、具体的な位置については言及しない)。これら2つの遺伝子座を $qNLH1$, $qNLH2$ と命名した。2つの遺伝子座は华中農業大学のグループによって報告された $LHL1$, $LHL2$ とは染色体上の位置が

異なっており、結球性に関わる新規の遺伝子座であることが示唆された。現在、限定した遺伝子座において PCR マーカーを作成し、遺伝子座のファインマッピングを進めている。*qNLH1* については、QTL シーケンシングによる位置情報、ゲノム多型情報、およびトランスクリプトーム解析の結果から、いくつかの有力な候補遺伝子を見出すことに成功した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Kousuke Seki, Kenji Komatsu, Keisuke Tanaka, Masahiro Hiraga, Hiromi Kajiya-Kanegae, Hideo Matsumura & Yuichi Uno	4. 巻 7
2. 論文標題 A CIN-like TCP transcription factor (LsTCP4) having retrotransposon insertion associates with a shift from Salinas type to Empire type in crisphead lettuce (<i>Lactuca sativa</i> L.)	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Horticulture Research	6. 最初と最後の頁 1-14
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41438-020-0241-4	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
---------------------------	-----------------------	----

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