

令和 5 年 10 月 24 日現在

機関番号：13501

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K15516

研究課題名（和文）ブラシノステロイドを介したブドウの新梢長制御メカニズムの解明

研究課題名（英文）Mechanism of brassinosteroid-mediated regulation of shoot length in grapevine.

研究代表者

榎 真一（Enoki, Shinichi）

山梨大学・大学院総合研究部・助教

研究者番号：40759312

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：強樹勢品種「甲州ブドウ」の新梢伸長制御機構において、ブラシノステロイドとその合成遺伝子VvCYP90D1が関与しているという仮説を立て、分子レベルで検証した。甲州および他品種群との比較ゲノム解析により、甲州は植物細胞壁組織の遺伝子において基準品種と比べて異なる遺伝的特徴が明らかになった。RNA-seq解析では、甲州の葉や茎においてVvCYP90D1の発現量が高く、遺伝子機能解析ではVvCYP90D1過剰発現シロイヌナズナにおいて、当該遺伝子が栄養成長を促進することが示された。これにより、強樹勢品種におけるVvCYP90D1と茎伸長の関連性が明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、強樹勢ブドウ品種「甲州」の栄養成長に、ブラシノステロイドおよびVvCYP90D1遺伝子が関与する事を証明し、ブドウの新梢長制御機構の一端を解明した。甲州ワインの国外輸出が注目される中、新梢長制御に関する理解不足が課題となっていた。ブドウの新梢長を効果的に制御する技術開発は、高品質で多収量のブドウ栽培を可能とし、世界市場で競争力を持つための戦略的な重要性がある。本研究の知見は、矮性品種育種や作業効率や果実品質の向上に繋がる新規栽培技術の開発への基盤を提供することが期待される。この研究は基礎研究から実用化へと繋がる応用性を有し、ブドウ農業およびワイン産業の発展に寄与するものと言える。

研究成果の概要（英文）：The hypothesis that brassinosteroids and the VvCYP90D1 gene, a Brassinosteroid Biosynthesis gene, are involved in the regulation of shoot elongation in the highly vigorous Koshu grapevine cultivar, was tested at the molecular level. Comparative genomic analysis of Koshu and other cultivars revealed that Koshu has different genetic characteristics compared to reference cultivars in terms of genes in plant cell wall tissues; RNA-seq analysis revealed high expression of VvCYP90D1 in leaves and internodes of Koshu. Gene function analysis revealed VvCYP90D1 overexpression in Arabidopsis indicated that the gene promotes vegetative growth. The results demonstrate a relationship between VvCYP90D1 and shoot elongation in vigorous cultivars.

研究分野：ブドウ栽培学、園芸学、植物生理学

キーワード：甲州ブドウ ブラシノステロイド 栄養成長 シュート伸長 VvCYP90D1

1. 研究開始当初の背景

『植物の茎の長さはどのように決定されるのか?』植物の茎長は、植物の大きさ(樹勢)に影響し、果実収量を決定する重要な要因である。ブドウでは新梢(茎と葉)の樹勢に応じた栽培法が検討されている。醸造用ブドウでは、横一列に並べた支柱に樹を誘引し栽培する垣根栽培が用いられる。この方法では機械作業が容易であり、糖度の高い高品質果実が得られる利点がある。しかし、日本の醸造用及び食用ブドウは樹勢が強く、この方法は適さない。特に日本固有の醸造用品種「甲州」は、茎の節間長が非常に長いため、単位空間当たりの収量が減少する問題がある。従って、新梢長制御技術の開発が望まれるが、ブドウの新梢伸長を制御するメカニズムの全容は不明である。

植物成長現象の多くは植物ホルモンが関与する。植物の大きさは細胞の数や長さにより決定され、オーキシン(Aux)、ブラシノステロイド(BR)などのPGRは単独・協調し植物長を制御する。ブドウでは主にインドール-3-酢酸等のAuxが関与する。モデル植物ではBRはAuxと協調して茎長制御へ関与するが、その効果は植物ごとの合成経路・最終代謝物に左右される。このため本研究では、強樹勢品種「甲州」では、新梢伸長制御にAux等の植物ホルモン以外にもBRが大きく影響すると仮定した。しかし、BRの果実成熟への関与は知られているものの、ブドウでのBRの茎伸長効果やその作用機構は依然不明である。

2. 研究の目的

ブドウの新梢長は、品種間差が大きく、品種固有の形質と見なすことができる。欧州系醸造用品種のピノ・ノワール(PN)と比べ、甲州は萌芽数週間目で2倍近くの茎長を有する。甲州は茎の長さ以外にも果皮色、糖度、耐病性などに特徴を有する。近年、この個性的な甲州を原料とした甲州ワインは国際的に高い評価を受けているものの、茎長の長さによる栽培の困難さから高品質果実の大量収穫は難しく、生産量は需要に追いついていない。本研究は『ブドウの茎長制御技術』の開発による甲州ブドウの増産技術の確立を目指して、『ブドウの新梢の茎長決定メカニズムの解明』を目的とした。

申請者は、甲州新梢のRNA-seq解析(Enoki et al., 2018)により、フラボノイド生合成経路など耐病性に関わる甲州の特徴を遺伝子発現の観点から顕在化に成功している。更に、この研究では茎におけるBR合成経路の多くの遺伝子の発現量がPNよりも甲州で高く、BRと新梢伸長との関連が示唆された。このうち3-epi-6-deoxocathasterone 23-monooxygenase 酵素をコードする*Cytochrome P450 90D1*(C1ホモログ)遺伝子はBR合成経路の中流で、多くの代謝産物の分岐合成反応への関与がモデル植物では知られている。そこで、より配列の近いブドウ*CYP90D1*遺伝子(*VvCYP90D1*)の品種ごとの発現比較をしたところ、甲州の茎ではPNに比べ高発現していることを見出した。これより、本研究は、甲州では『BR合成・代謝経路に品種特性を持ち、BR合成代謝経路が活性化し、BR合成遺伝子のうちの1つである*VvCYP90D1*が決定的な働きをすることで多量のBRが蓄積し、著しい茎伸長が生じる』という独創的な仮説を立てた。本研究では甲州品種のBR特性解析を通じ、この仮説を包括的に証明した。

3. 研究の方法

研究目的に対し、

- (1) BR合成経路の品種特性解析
: 比較ゲノム解析、RNA-seq解析
- (2) *VvCYP90D1*の機能解析
: ブドウ圃場試験、シロイヌナズナを用いた遺伝子機能解析

の2項目により、新梢長制御技術の開発のための基礎知見を得るために仮説の証明を行った。

4. 研究成果

- ①世界で初となる甲州ブドウの全ゲノム解析を行い、遺伝的特性の把握を完了した(図1)。その結果、他品種と比べて甲州は新梢伸長への関与が考えられる「植物細胞壁組織」の遺伝子などにおいて、基準品種よりも非同義置換を多く持つなどの遺伝的特徴を明らかにした。この成果は、研究書年度に「Frontiers in Plant Science」誌で報告した。
- ②RNA-seq解析により、基準品種に比べて甲州の葉および茎において、BR合成経路の各合成遺伝子なかでも*VvCYP90D1*の発現量が有意に高いことを明らかにした(図2)。シロイヌナズナでの遺伝子機能解析により、*VvCYP90D1*の過剰発現はBR含量を増加させ、栄養成長量を増加させる効果を示した。以上より、ブドウの強樹勢品種におけるBR合成遺伝子*Vv90CYPD1*と茎伸長の関連性が明らかとなった。この知見は研究期間終了後の令和5年度に「Plant Physiology and Biochemistry」誌に掲載済みである。

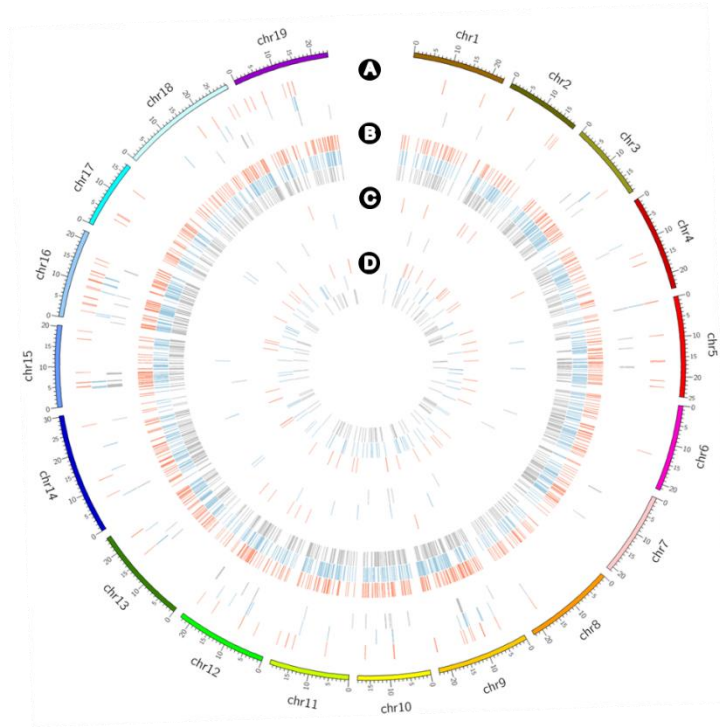


図1 甲州ゲノムの構造的な特徴付け 甲州(赤色)、Thompson Seedless(水色)、Tannat(灰色)に対するコピー数多型(A:挿入、B欠失)と大規模配列多型(C:挿入、D:欠失)を染色体の位置情報を基に示した。

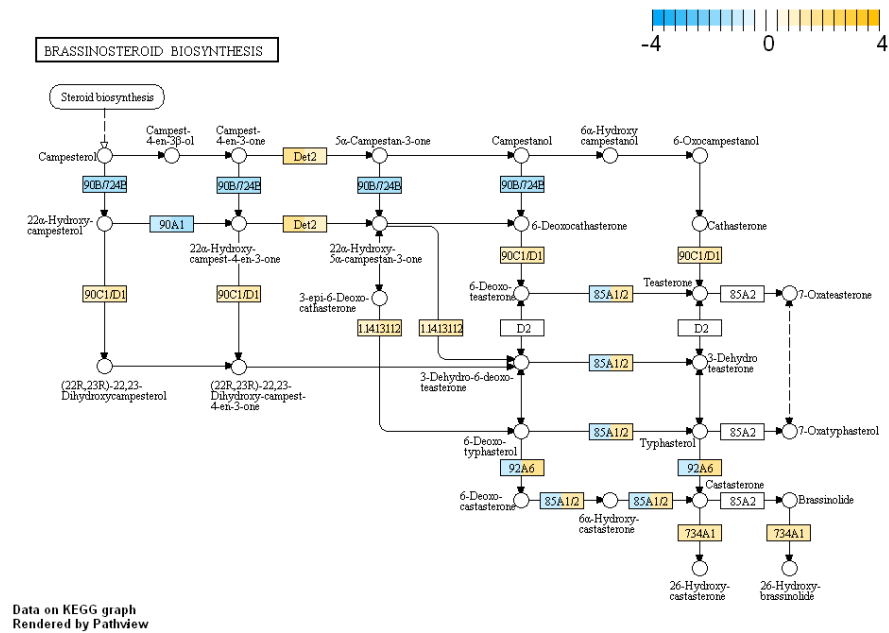


図2 甲州とPNの新梢におけるBR合成経路の各遺伝子の発現量比較 ボックスは各酵素をコードする遺伝子発現量を示す(左半分:葉、右半分:茎)。色がオレンジ色ほど甲州で、水色ほどPNで発現が高い。

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 2件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Enoki*, S., Tanaka, K., Moriyama, A., Hanya, N., Mikami, N., Suzuki, S.	4. 巻 196
2. 論文標題 Grape cytochrome P450 CYP90D1 regulates brassinosteroid biosynthesis and increases vegetative growth.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Plant Physiology and Biochemistry.	6. 最初と最後の頁 993-1001
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.plaphy.2023.02.052	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 該当する

1. 著者名 Tanaka, K., Hamaguchi, Y., Suzuki, S., & Enoki, S*.	4. 巻 11
2. 論文標題 Genomic characterization of Japanese indigenous wine grape <i>Vitis</i> sp. cv. Koshu.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Plant Science.	6. 最初と最後の頁 1629
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fpls.2020.532211	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3件（うち招待講演 1件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 榎真一*
2. 発表標題 Genetic characteristics of Japanese indigenous grape 'Koshu' for high-end white wines.
3. 学会等名 OENOVITI International Symposium 2022.（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Enoki, S.
2. 発表標題 VvCYP90D1 from Japanese Indigenous Grape "Koshu" Regulates Plant Growth Mediated by Brassinosteroid Biosynthesis.
3. 学会等名 The 4th Asian Horticultural Congress (AHC2023).（国際学会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 榎真一・田中啓介・森山綾音・半谷紀道・鈴木 俊二
2. 発表標題 BR合成遺伝子Vv90D1によるブドウの茎伸長効果の解明
3. 学会等名 園芸学会令和3年度春季大会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<ul style="list-style-type: none"> ・2020「日本固有のワイン用ブドウ品種「甲州」のゲノム解読と特徴付けに成功」山梨大学プレスリリース https://www.yamanashi.ac.jp/wp-content/uploads/2020/11/20201116press.pdf ・2020 甲州ゲノム解読に関する新聞報道（朝日新聞等6件） https://www.asahi.com/articles/ASNDJ3GDGNDJUTIL002.html ・2022「日本ワイン・ブドウ学会（論文賞）」甲州「ブドウの特性解明に関する研究」鈴木俊二・榎真一

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
研究協力者	鈴木 俊二 (Suzuki Shunj) (60372728)	山梨大学・大学院総合研究部・教授 (13501)	
研究協力者	田中 啓介 (Tanaka Keisuke) (60747294)	東京農業大学・その他の部局等・助教 (32658)	

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