

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 20 日現在

機関番号：14301
 研究種目：挑戦的萌芽研究
 研究期間：2011～2012
 課題番号：23658009
 研究課題名（和文） B染色体の同祖染色体対合誘発作用を利用した異種有用遺伝子のパンコムギへの導入
 研究課題名（英文） Introduction of alien genes into common wheat by means of homoeologous pairing induced by B chromosomes
 研究代表者
 遠藤 隆 (ENDO TAKASHI)
 京都大学・大学院農学研究科・教授
 研究者番号：60068830

研究成果の概要（和文）：同祖染色体対合は減数分裂における異種染色体間の対合であり、パンコムギの育種においては近縁異種から有用遺伝子を導入する際に必要とされる重要な現象である。過剰染色体であるライムギ B 染色体は同祖染色体対合を誘発すると示唆されている。申請者はライムギ B 染色体を分断してパンコムギに導入することに成功している。本研究では、ライムギ B 染色体のどの領域がパンコムギにおいて同祖染色体対合を誘発するかを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：Meiotic pairing of homoeologous chromosomes of different species is called ‘homoeologous pairing’, which is a crucial event in introducing alien useful genes into common wheat. Rye B chromosomes are supernumerary chromosomes and are supposed to induce homoeologous pairing. I have successfully introduced fragmented rye B chromosomes into common wheat. In this study, I did research on which region of the rye B chromosome is responsible for the induction of homoeologous pairing.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2900000	870000	3770000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学・育種学

キーワード：パンコムギ、ライムギ、B染色体、同祖染色体対合、異種遺伝子

1. 研究開始当初の背景

パンコムギ ($2n=6x=42$) は近縁の 3 種の 2 倍体種 ($2n=2x=14$) との交雑と染色体倍加によって生じた 6 倍体であるが、減数分裂で多価染色体を形成しない。これは、パンコムギには同祖染色体対合を抑制する遺伝子 (*Ph*) が 5B 染色体上に存在しているためであり、*Ph* 遺伝子は倍数体進化の上で極めて重要な

役割を持っている。このため、パンコムギと近縁種を交雑して雑種を得ても、減数分裂において同祖染色体間の対合は抑制されてしまい、乗換えによる異種からの有用遺伝子の導入は不可能である。パンコムギには *Ph* 遺伝子を欠失した系統があり、従来、*Ph* 遺伝子を欠失した系統との 2 回の交配及び選抜をすることによって同祖染色体対合の誘発が行

われてきた。しかし、この交配と選抜は手間と時間がかかるため、より簡便な方法が要望されている。

種の通常の染色体 (A 染色体) とは別に存在する B 染色体は、染色体不分離という特異な作用によって数を増やして集団中に維持されており、過剰染色体とも呼ばれる特異な染色体である。1000 種を越す動植物に普遍的に存在することが確認されている B 染色体は、同祖染色体対合を誘発するとも報告されているが、その実態は未だ解明されていない (Jones 1995)。ライムギの B 染色体では、動原体近傍に染色体分体を繋ぎ止める接着領域が、長腕末端の高度反復配列領域内に不分離をコントロールする領域が存在することが示唆されている (Jones and Houben 2003)。申請者は、パンコムギに導入したライムギ B 染色体にパンコムギ染色体との相互転座を誘発し、動原体領域と長腕末端領域をそれぞれ持つパンコムギ系統を育成した (Endo et al. 2008)。さらに、申請者は、未発表ではあるが、ライムギ B 染色体の添加が、*Ph* 遺伝子の欠失ほどではないが、パンコムギにおいて同祖染色体対合を誘発するという予備実験の観察結果を得ている。

2. 研究の目的

本研究では、B 染色体の同祖染色体対合を誘発する作用をパンコムギ育種に利用することを念頭において、以下の 2 つの課題を明らかにする。

- (1) パンコムギにおけるライムギ B 染色体の同祖染色体対合誘発の程度を、DNA マーカーを用いた PCR 分析によりライムギ 1R 染色体とパンコムギ 1B 染色体間の乗換え頻度を測定することにより明らかにする。

- (2) 同祖染色体対合に關与する B 染色体領域を明らかにするため、ライムギ B 染色体の動原体領域と長腕末端領域を持つパンコムギ系統に近縁野生種を交配し、その雑種植物の染色体対合の観察から B 染色体のどの領域が同祖染色体対合誘発に關与しているかを明らかにする。

3. 研究の方法

2 年度に亘って、以下の系統育成と調査を行う。

平成 23 年度

- (1) ライムギ B 染色体添加パンコムギ系統 ($2n=42+B$) とライムギ 1R 染色体置換パンコムギ系統 ($2n=42, 1R$ (1B)) を交配する。
- (2) 上記 (1) で得た雑種にパンコムギ純系を交配して得た B_1 集団においてライムギ 1R 染色体とパンコムギ 1B 染色体間の乗換え頻度を調査する。
- (3) ライムギ B 染色体断片パンコムギ系統 (B-9, B-10) に野生種 *Aegilops variabilis* ($2n=28$) を交配する。

上記 (1)、(3) で得た雑種において減数分裂での染色体対合を観察する。

平成 24 年度

- (1) 平成 23 年度の 1) で得たそれぞれの雑種の減数分裂におけるライムギ 1R 染色体とパンコムギ 1B 染色体間の同祖染色体対合を FISH/GISH で調査する。
- (2) 上記 1) の雑種にパンコムギ純系を交配して戻し交配集団 B_1 を得る。
- (3) それぞれ約 300 個体の B_1 集団を温室で栽培して DNA を抽出する。

(4) 上記3)の34のDNAとライムギ1R染色体特異的PCRマーカーを用いてPCR分析を行い、ライムギ1R染色体とパンコムギ1B染色体の間での乗換え頻度を調査し、ライムギB染色体の同祖染色体対合誘発効果を明らかにする。

(5) 平成23年度の2)で染色体構成を確認した個体の減数分裂における染色体対合をFISH/GISHで調査する。パンコムギ純系と *Aegilops variabilis* との雑種では、同祖染色体対合は完全に抑制されて全染色体は一価染色体となることが知られているので、ライムギB染色体またはB染色体断片の同祖染色体対合誘発効果を細胞遺伝学的観察から明らかにできる。

4. 研究成果

(1) **ライムギB染色体がパンコムギにおいて育種目的に利用できる程度の同祖染色体対合を誘発するか**：平成23年度には、「ライムギB染色体添加パンコムギ系統 ($2n=42+B$)」 x ライムギ1R染色体置換パンコムギ系統 ($2n=42, 1R''(1B)$)」及び「パンコムギ純系 ($2n=42$) x ライムギ1R染色体置換パンコムギ系統 ($2n=42, 1R''(1B)$)」の交配を行なった。さらに、当初計画には無かったが、「ライムギB-9染色体添加パンコムギ系統 ($2n=42+B-9$)」 x ライムギ1R染色体置換パンコムギ系統 ($2n=42, 1R''(1B)$)」、「ライムギB染色体添加パンコムギ系統 ($2n=42+B$)」 x オオムギ4H染色体置換パンコムギ系統 ($2n=42, 4H''(4B)$)」、「パンコムギ純系 ($2n=42$) x オオムギ4H染色体置換パンコムギ系統 ($2n=42, 4H''(4B)$)」及び「ライムギB-9染色体添加パンコムギ系統 ($2n=42+B-9$)」 x オオムギ4H染色体置換パンコムギ系統 ($2n=42, 4H''$)

(4B)」の交配を行なった。

平成24年度には、平成23年度に交配した6系統の雑種を栽培し、その減数分裂における同祖染色体1R/1B間及び4H/4B間の対合の *in situ hybridization* による観察、及び、その子孫での1Rと1B間の乗換えの体細胞における *in situ hybridization* 観察とPCR解析を計画した。雑種を温室で栽培してきたが、冬季の異例の低温のため生育が遅れ、減数分裂調査のための葯の固定と一部の観察をするに止まった。それでも、減数分裂の中期~4分子の細胞において *in situ hybridization* 観察が可能であることが明らかになり、今後の調査の見込みが立った。PCR解析の準備として、1R染色体特異的なPCRマーカー(染色体全長にわたる8マーカー)及び4H染色体特異的なPCRマーカー(染色体全長にわたる9マーカー)を既存のデータから選抜し、明瞭なPCR産物のバンドが、1R及び4H染色体置換系統では生じ、パンコムギ純系では生じないことを確認した。雑種植物は順調に生育しているため、今後は減数分裂の調査、交配、そして収穫した雑種の種子を用いて体細胞の *in situ hybridization* 観察とPCR解析を遂行する予定である。

(2) **同祖染色体対合に関与するB染色体領域はどこか**：平成23年度には、「ライムギB染色体添加パンコムギ系統 ($2n=42+B$)」 x *Aegilops variabilis*」、「ライムギB染色体断片パンコムギ系統 (B-9) x *Aegilops variabilis*」、「ライムギB染色体断片パンコムギ系統 (B-10) x *Aegilops variabilis*」、「パンコムギ純系 ($2n=42$) x *Aegilops variabilis*」の交配を行った。上記の *Aegilops variabilis* との交配で得た雑種個体を温室で栽培して、減数分裂の調査を行なった。その結果、ライムギB染色体の動原体領

域 (B-9染色体) も末端領域 (B-10染色体) も、有意に同祖染色体対合を誘発する効果があることが明らかになった。特にB-9染色体の効果はB 染色体全体及びB-10染色体の効果よりも有意に高いことが明らかになった (下図1-3参照)。また、パンコムギの5B染色体が同時に存在するときにはB 染色体には同祖染色体対合を促進する作用があり、5B染色体が存在しないときにはB 染色体は同祖染色体対合に対して抑制的に作用することが明らかになった。これにより、過去のライムギB 染色体の同祖染色体対合に対する作用に関する矛盾した報告の原因を明らかにすることができた。

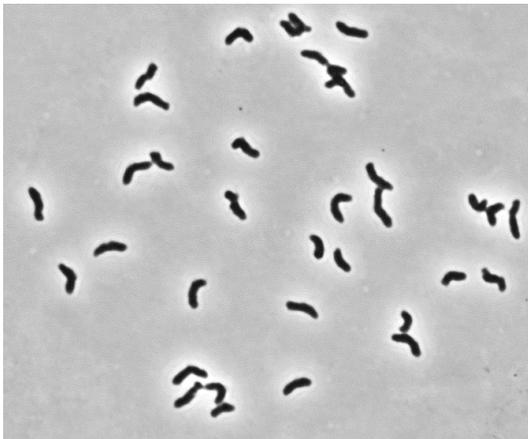


図1. パンコムギ純系 (2n=42) x *Aegilops variabilis* F1 (2n=35) の減数分裂第一分裂中期における染色体対合の位相差顕微鏡写真。

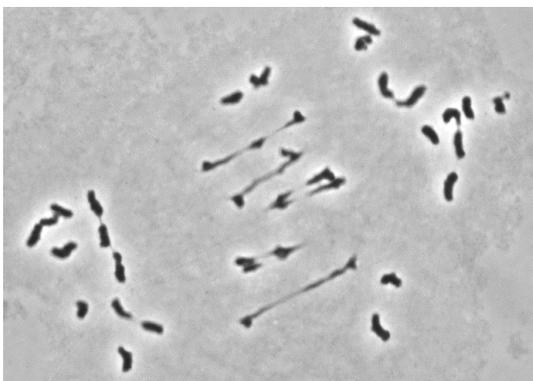


図2. B 染色体断片パンコムギ系統 (B-9) x *Aegilops variabilis* F1 (2n=35+ B^s-9') の減数分裂第一分裂中期における染色体対合の位相差顕微鏡写真。

の減数分裂第一分裂中期における染色体対合の位相差顕微鏡写真。

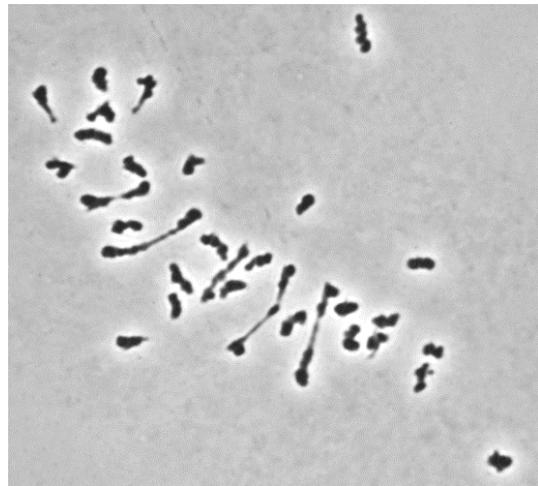


図3. B 染色体断片パンコムギ系統 (B-10) x *Aegilops variabilis* F1 (2n=35+ B^s-10') の減数分裂第一分裂中期における染色体対合の位相差顕微鏡写真。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計1件)

Kousaka R, Endo TR, Effect of a rye B chromosome and its segments on homoeologous pairing in hybrids between common wheat and *Aegilops variabilis*, *Genes & Genetic Systems*, 査読有、87巻、2012 1-7

URL:https://www.jstage.jst.go.jp/article/ggs/87/1/87_1_1/_pdf

[学会発表] (計2件)

①高坂亮太、遠藤隆、「パンコムギに導入されたライムギB 染色体の染色体不分離」、日本遺伝学会83回大会、2011年9月22日、京都大学農学部

②Giri Prasad Joshi, Takashi R. Endo, Shuhei Nasuda、「Chromosome mapping of a gene loci controlling meiotic chromosome pairing in wheat」、日本遺伝学会84回大会、

2012年09月25日、九州大学医学部

6. 研究組織

(1) 研究代表者

遠藤 隆 (ENDO TAKASHI)

研究者番号 : 60068830