

京都大学教育研究振興財団助成事業
成 果 報 告 書

令和2年 4月 28日

公益財団法人京都大学教育研究振興財団

会 長 藤 洋 作 様

所 属 部 局 農学研究科

職 名 助教

氏 名 西村 和紗

助 成 の 種 類	令和元年度 ・ 研究活動推進助成			
申請時の科研費 研究 課 題 名	同一シスエレメント遺伝子間の比較によるコムギ同祖遺伝子発現パターン制御機構の解明			
上記以外で助成金を 充 当 した 研 究 内 容	四倍体コムギを用いた有用遺伝子の探索			
助成金充当に関 わる共同研究者	(所属・職名・氏名) なし			
発表学会文献等	なし			
成 果 の 概 要	研究内容・研究成果・今後の見通しなどについて、簡略に、A4版・和文で作成し、添付して下さい。(タイトルは「成果の概要／報告者名」)			
会 計 報 告	交付を受けた助成金額	1,000,000 円		
	使用した助成金額	1,000,000 円		
	返納すべき助成金額	0 円		
	助成金の使途内訳	費 目	金 額	
		英文校閲	17,553	
		研究用消耗品購入	191,435	
作物栽培資材		226,998		
シーケンス解析(外注)	564,014			
当財団の助成に つ い て	(今回の助成に対する感想、今後の助成に望むこと等お書き下さい。助成事業の参考にさせていただきます。) 予算の心配をすることがなく研究を進めることができ、令和二年度の科研費は無事採択されました。ご支援いただき感謝しております。			

【研究の背景】

世界の三大作物の一つであるコムギにおいて出穂開花特性は重要形質であり、本邦の秋播き栽培においては穂発芽や赤カビ病などの雨害により収量や品質の低下が問題となっているため、早生化が特に重要な育種目標である。我々は、現在世界で広く栽培されている六倍体パンコムギの祖先種であり、六倍体コムギに比べて遺伝的多様性に富む四倍体コムギが、遺伝資源として有用であると考え(四倍体コムギのゲノム構成は AABB、六倍体コムギは AABBDD である)、四倍体コムギのグループに潜在する新規出穂開花遺伝子の探索を行ってきた。この四倍体コムギ品種の解析を通して、京大ビールの原料のエンマーコムギ系統 TN26 が、日本品種の多くが保有する早生遺伝子である *Ppd1* 遺伝子の早生化作用を超える新規早生遺伝子を保有すること、および、このエンマーコムギが保有する早生遺伝子の一つが、開花ホルモン”フロリゲン”として知られるシロイヌナズナの開花遺伝子 *Flowering locus T (FT)* の同祖遺伝子である *VRN-A3* の新規対立遺伝子であることを明らかにした。一方で、この *VRN-A3* 早生アレルは六倍体コムギにおいて大きな早生化作用をもたず、四倍体コムギ系統から見出された新規遺伝子が六倍体コムギにおいて機能しない可能性を見出した。また、*VRN-A3* に関しては六倍体コムギの遺伝的背景では極端に発現が低下すると報告されており (Shaw et al. 2013)、このことは六倍体コムギにおいて *VRN-A3* の早生対立遺伝子の作用が小さくなることを示唆する。したがって、四倍体コムギで見出した遺伝子を六倍体コムギの育種に利用するためには、四倍体コムギと類似した遺伝子発現パターンを示す六倍体コムギ系統、およびその遺伝的要因を探索・同定する必要がある。そこで、本研究では複数の六倍体コムギおよび四倍体コムギを供試し、これらの系統の各同祖遺伝子の発現比率を調査し、四倍体コムギに近い同祖遺伝子の発現パターンを示す六倍体コムギ品種を探索する。また、並行して、同祖遺伝子の発現比率を制御する染色体領域を同定するための材料の作出を行う。

【研究内容および成果】

・実験 1 四倍体コムギと類似した同祖遺伝子発現パターンを示す六倍体コムギ系統の探索。

六倍体コムギ系統 5 系統 (CS、KT19-1、KU151、KU155 および KU161)、合成六倍体コムギ 2 系統 (SHW1 および SHW2)、および四倍体コムギ 4 系統 (TN26、TN28、TTW427 および LDN) を供試した。各系統を温室内で播種、育苗した後、京都大学大学院農学研究科附属農場内の圃場へ移植した。移植 2 週間後、完全展開した第一葉を正午にサンプリングし ($n = 3$)、RNA の抽出を行った。その後、抽出した RNA を RNAseq 解析に供試した。Kuo et al. (2018) の手法によって、A、B、D ゲノムに共通する同祖遺伝子を 21196 セット抽出し、これらの遺伝子に関して RNAseq によって取得したデータから、各遺伝子の rpm (read per million) 値を算出した。次いで、全ての系統で rpm 値が 2 を下回っている同祖遺伝子を

除外し、同祖遺伝子を 8212 セット抽出した。抽出した同祖遺伝子に関して A ゲノムおよび B ゲノムの同祖遺伝子の発現量の和に対する A ゲノムの同祖遺伝子の発現量の比率(A ゲノムの rpm 値/A および B ゲノムの rpm 値の和)を算出した。この発現比率情報を変数として、主成分分析を行い、上位 2 つの主成分に関してクラスター分析を行った。クラスター分析の結果、最適なクラスター数は 3 となり (図 1)、クラスター 1 は全ての四倍体コムギ系統、および SHW1 を含んでいた。クラスター 2 は六倍体コムギ系統を 5 系統含んでいた。これら二つのクラスターは主に第二主成分によって分類された。クラスター 3 には SHW2 のみが含まれていた。KT19-1 はクラスター 2 に属するものの、四倍体コムギが属するクラスター 1 の比較的近くに位置した。これらの結果は、KT19-1 および SHW1 は、四倍体コムギに近い発現比率パターンを示す

ことが示唆する。本研究によって、六倍体コムギであっても四倍体コムギに近い A ゲノムおよび B ゲノムの発現パターンを示す系統が存在することが明らかとなった。今後は、KT19-1 および SHW1 の 2 系統と、クラスター 2 に属する六倍体コムギ系統との交雑を行い、発現比率を制御する染色体領域を同定するための材料を作出する。

・実験 2 同祖遺伝子発現パターンを制御する遺伝子領域の探索のための供試材料作出

同祖遺伝子発現パターンの変化は倍数化によって生じる場合と各遺伝子の配列の違いによって生じると考えられるため、倍数化に伴う発現パターンの変化を調査するための理想的な実験材料は、AB ゲノムは同一であり D ゲノムのみが異なっている材料である。そこで、AB ゲノムの供与親である四倍体コムギ品種を固定し、D ゲノム親を複数種類供試した合成六倍体の作出を上記の実験と並行して行った。2019 年の秋に四倍体コムギ品種 30 系統と複数のタルホコムギを圃場に定植しており、現在、各系統の交雑 F1 を作出している。

【引用文献】

1. Shaw LM, Turner AS, Herry L, Griffiths S, Laurie DA (2013) Mutant alleles of Photoperiod-1 in wheat (*Triticum aestivum* L.) that confer a late flowering phenotype in long days. PLoS ONE, 8, e79459. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0079459>
2. Kuo TCY, Hatakeyama M, Tameshige T, Shimizu KK, Sese J (2018) Homeolog expression quantification methods for allopolyploids. Brief Bioinform bby121

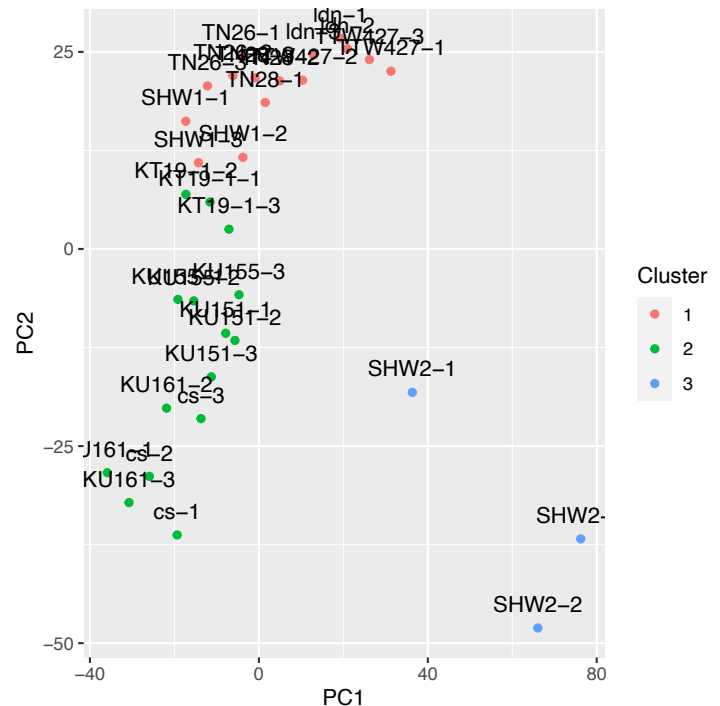


図 1. コムギの A ゲノムおよび B ゲノム間の発現比率情報を用いた主成分分析