

Ipomoea 属植物の胞子体型自家不和合性
に關与する分子遺伝学的機構の解析

(課題番号：16380005)

平成 16 年度～平成 18 年度科学研究費補助金 (基盤研究(B))

研究成果報告書

平成 19 年 3 月

研究代表者 神山康夫

三重大学大学院生物資源学研究科教授

は し が き

両性花植物の自家不和合性は、自家受精による内婚弱勢を回避し他家受精を促進する遺伝的機構であり、植物集団内の遺伝的多様性を維持し環境変化に適応・生残するために植物進化の過程において確立された性質である。またこの性質は、アブラナ科野菜における効率的なF₁採種や、果樹の着果率を左右する要因として農業的にも重要な形質である。この自家不和合性は、雌蕊における自己花粉と非自己花粉との自他認識反応によって、自己花粉の受精が抑制される現象である。近年、アブラナ科、ナス科、バラ科およびケシ科植物において、自家不和合性の自他認識に関わる遺伝子が明らかにされ、それらの分子的機構の解明に関する研究が国内外の多くの研究者によって進められている。ヒルガオ科の *Ipomoea* 属植物における自家不和合性はS遺伝子座に座乗する複対立遺伝子によって制御されているが、アブラナ科等の植物とは異なる分子機構が働いていると推測されている。本研究は、*Ipomoea* 属植物のS遺伝子座にコードされている遺伝子を同定し、ヒルガオ科における自家不和合性の分子遺伝学的機構を明らかにすることを目的として3ヶ年にわたって実施された。本研究により得られた研究成果の要点は、次の通りである。(1) S遺伝子座に緊密に連鎖する数種類のDNAマーカーを同定し、精密な遺伝地図を構築した。(2) 3種のSハプロタイプ(*S₁*, *S₁₀*, *S₂₉*)について遺伝地図に基づくポジショナルクローニングによる染色体歩行を行った結果、S遺伝子座をカバーするゲノムクローンをそれぞれ得た。(3) これらのクローンの解析から、*S₁*(308kb)、*S₁₀*(67kb)および*S₂₉*(118kb)のゲノム塩基配列を明らかにした。Sハプロタイプ間の塩基配列比較から、変異が著しい30~95kbにわたる多型性領域が見出され、S遺伝子座の物理的範囲が絞り込まれた。(4) ノーザン分析による遺伝子の発現解析ならびにcDNAクローンの解析から、3種の柱頭特異的発現遺伝子(*SE1*, *SE2*, *SEA*)ならびに葯・花粉特異的発現遺伝子(*AB2*)がS遺伝子候補として同定された。(5) 柱頭特異的S遺伝子候補について、RNAiコンストラクトを導入した形質転換体を作成し発現解析を行った結果、自家不和合性形質の変化は認められなかった。これは、形質転換体における発現抑制の程度や相同性蛋白質による補完作用などが原因として考えられた。(6) これら柱頭特異的遺伝子産物は膜貫通型蛋白質であると予測されたが、他の植物で知られているS遺伝子産物とは相同性が認められないことから、ヒルガオ科では新規の自家不和合性機構が働いていることが示された。本研究により得られたS遺伝子候補は、分子的機構の解明に大きな手がかりとなるものであり、今後の研究の更なる展開が期待される。

平成19年3月

研究代表者

三重大学大学院生物資源学研究所

分子遺伝育種学研究室・教授

神 山 康 夫

研究組織

- 研究代表者： 神山康夫 (三重大学大学院生物資源学研究科 教授)
研究分担者： 掛田克行 (三重大学大学院生物資源学研究科 助教授)
研究協力者： 土屋 亨 (三重大学生命科学研究支援センター 助教授)

交付決定額 (配分額)

(金額単位：千円)

	直接経費	間接経費	合計
平成16(2004)年度	5,500	0	5,500
平成17(2005)年度	5,000	0	5,000
平成18(2006)年度	4,900	0	4,900
総計	15,400	0	15,400

研究発表

(1) 学会誌等

1. Tomita, R.N., Fukami, K., Takayama, S., Kowyama, Y. Genetic mapping of AFLP/AMF-derived DNA markers in the vicinity of the self-incompatibility locus in *Ipomoea trifida*. *Sexual Plant Reproduction* 16: 265-272 (2004)
2. Tomita, R.N., Suzuki, G., Yoshida, K., Yano, Y., Tsuchiya, T., Kakeda, K., Mukai, Y., Kowyama, Y. Molecular characterization of a 313-kb genomic region containing the self-incompatibility locus of *Ipomoea trifida*, a diploid relative of sweet potato. *Breeding Science* 54: 165-175 (2004) 【2005年 日本育種学会論文賞受賞】
3. Suzuki, G., Tanaka, S., Yamamoto, M., Tomita, R.N., Kowyama, Y., Mukai, Y. Visualization of the *S*-locus region in *Ipomoea trifida*, toward a positional cloning of the self-incompatibility genes. *Chromosome Research* 12: 475-481 (2004)
4. Rahman, M.H., Tsuchiya, T., Suwabe, K., Kohori, J., Tomita, R.N., Kagaya, Y., Kobayashi, I., Kakeda, K., Kowyama, Y. Physical size of the *S* locus region defined by genetic recombination and genome sequencing in *Ipomoea trifida*, Convolvulaceae. *Sexual Plant Reproduction* 20: (in press) online published (2007)
5. Rahman, M.H., Uchiyama, M., Kuno, M., Hirashima, N., Suwabe, K., Tsuchiya, T., Kagaya, Y., Kobayashi, I., Kakeda, K., Kowyama, Y. Expression of stigma- and anther-specific genes located in the *S* locus region of *Ipomoea trifida*. *Sexual Plant Reproduction* 20: (in press) online published (2007)

(2) 国際学会での発表

1. Kakeda, K., Kowyama, Y. Diversity of the self-incompatibility systems in plants. 4th International Symposium on the Molecular and Cell Biology of Egg- and Embryo-Coats, (Shima, Japan), p.91 (2004)
2. Rahman, M. H., Suwabe, K., Tsuchiya, T., Kowyama, Y. Genomic structure covering the *S*-locus in *Ipomoea trifida*, a wild species of sweet potato. 10th International Congress of SABRAO (Tsukuba, Japan), p. A-9 (2005)
3. Kowyama, Y., Rahman, M. H., Suwabe, K., Uchiyama, M., Kuno, M., Kakeda, K., Tsuchiya, T. Gene expression analyses of the *S*-locus region conferring a sporophytic self-incompatibility in *Ipomoea*, Convolvulaceae. 19th International Congress on Sexual Plant Reproduction, (Budapest, Hungary), p.166-167 (2006)
4. Tsuchiya, T., Suwabe, K., Kuno, M., Uchiyama, M., Rahman, M. H., Kakeda, K., Kowyama, Y. Identification of candidate genes involved in sporophytic self-incompatibility of *Ipomoea trifida*, a close relative to sweet potato. 8th International Congress of Plant Molecular Biology (Adelaide, Australia), (2006)

(3) 国内学会シンポジウムでの講演発表

1. 神山康夫 (2004) 科研特定領域研究公開シンポジウム「植物の生殖研究- その最前線と今後の方向-」 「自家不和合性機構の多様性」 (東京大学、2004)

(4) 国内学会での口頭発表

1. 掛田克行・武田 真. オオムギ野生種の自家不和合性遺伝子座周辺における組換え抑制. (育種学研究 6(1):88) (日本育種学会、東京大学、2004)
2. 平嶋奈津子・内山美奈・榊原洋子・Rubens Norio Tomita・神山康夫. サツマイモ野生種の S 遺伝子座領域における薬特異的発現遺伝子の解析 (育種学研究 6(2):159) (日本育種学会、三重大学、2004)
3. 内山美奈・平嶋奈津子・榊原洋子・Rubens Norio Tomita・神山康夫. サツマイモ野生種の S 遺伝子座領域における柱頭特異的発現遺伝子の解析 (育種学研究 6(2):160) (日本育種学会、三重大学、2004)
4. 花井陽介・木浦正和・神山康夫・掛田克行. オオムギ野生種における S 遺伝子座型特異的雌蕊タンパク質の探索と解析. (育種学会中部地区談話会、名古屋大学、2004)
5. 平尾香那子・神山康夫・平塚 伸. ニホンナシの自家不和合性に関する研究. 自家和合性 ‘おさ二十世紀’ は自家不和合性細胞を含むキメラである. (日本園芸学会、筑波大学、2005)
6. 久野壮志・内山美奈・Md.Habibur Rahman・諏訪部圭太・土屋 亨・掛田克行・神山康夫. サツマイモ野生 2 倍体種における自家不和合性遺伝子座領域の塩基配列解析. (育種学会中部地区談話会、岐阜大学、2005)
7. 小黒泰輔・伊地知豊美・柿本知香・神山康夫・掛田克行. サツマイモ野生二倍体種における柱頭特異的発現遺伝子 (*SE-1*) の RNAi 形質転換体の解析. (育種学会中部地区談話会、岐阜大学、2005)
8. 掛田克行・花井陽介・栗生賢一・神山康夫. オオムギ野生種における S ハプロタイプ特異的な配列多型性を示す雌ずい cDNA の解析. (日本育種学会講演会、愛媛大学、2006)
9. Rahman, M. H., Tsuchiya, T., Suwabe, K., Kakeda, K., Kowyama, Y. Analyses of gene organization and expression in the *S*-locus region conferring a sporophytic self-incompatibility of *Ipomoea trifida*. (育種学会中部地区談話会、野菜茶業研究所、2006)

(5) 出版物

1. 「新編 農学大事典」山崎耕宇他監修, “遺伝子の単離”, 神山康夫 (分担執筆), p. 945-946, 養賢堂 (2004).

研究成果（目次）

- Genetic mapping of AFLP/AMF-derived DNA markers in the vicinity of the self-incompatibility locus in *Ipomoea trifida*. ----- 1
Tomita, R.N., Fukami, K., Takayama, S. and Kowyama, Y.
Sexual Plant Reproduction 16: 265-272. (2004)
- Molecular characterization of a 313-kb genomic region containing the self-incompatibility locus of *Ipomoea trifida*, a diploid relative of sweet potato. ----- 9
Tomita, R.N., Suzuki, G., Yoshida, K., Yano, Y., Tsuchiya, T., Kakeda, K., Mukai, Y. and Kowyama, Y.
Breeding Science 54: 165-175 (2004) 【2005年 日本育種学会論文賞受賞】
- Visualization of the *S*-locus region in *Ipomoea trifida*, toward a positional cloning of the self-incompatibility genes. ----- 20
Suzuki, G., Tanaka, S., Yamamoto, M., Tomita, R.N., Kowyama, Y. and Mukai, Y.
Chromosome Research 12: 475-481 (2004)
- Physical size of the *S* locus region defined by genetic recombination and genome sequencing in *Ipomoea trifida*, Convolvulaceae. ----- 27
Rahman, M.H., Tsuchiya, T., Suwabe, K., Kohori, J., Tomita, R.N., Kagaya, Y., Kobayashi, I., Kaeda, K. and Kowyama, Y.
Sexual Plant Reproduction 20: (in press) online published (2007)
- Expression of stigma- and anther-specific genes located in the *S* locus region of *Ipomoea trifida*. ----- 37
Rahman, M.H., Uchiyama, M., Kuno, M., Hirashima, N., Suwabe, K., Tsuchiya, T., Kagaya, Y., Kobayashi, I., Kakeda, K. and Kowyama, Y.
Sexual Plant Reproduction 20: (in press) online published (2007)
- サツマイモ野生2倍体種におけるS遺伝子座領域のゲノム塩基配列解析 ----- 50
神山康夫・Rahman, M. H. ・高北英治・土屋 亨（未発表研究成果の概要）
- サツマイモ野生種における柱頭側*S*候補遺伝子のRNAi形質転換体の作出と解析 ----- 54
掛田克行・柿本知香・小黒泰輔・伊地知豊美・神山康夫（未発表研究成果の概要）