

令和 元 年 11 月 13 日

## 海外特別研究員最終報告書

独立行政法人 日本学術振興会 理事長 殿

採用年度 平成 30 年度

受付番号 201860070

氏 名 森本 拓也  
(氏名は必ず自署すること)

海外特別研究員としての派遣期間を終了しましたので、下記のとおり報告いたします。

なお、下記及び別紙記載の内容については相違ありません。

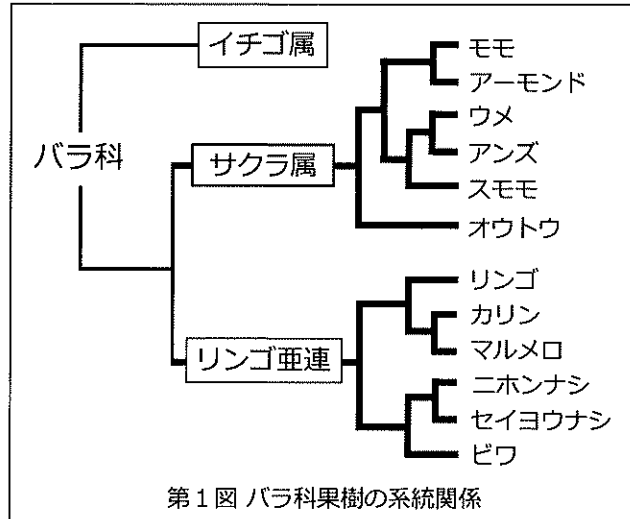
記

1. 用務地（派遣先国名）用務地： トレント (国名： イタリア )
2. 研究課題名（和文）※研究課題名は申請時のものと変わらないように記載すること。  
バラ科果樹の異種間交雑障壁に関する研究
3. 派遣期間：平成 30 年 5 月 11 日 ~ 平成 30 年 9 月 19 日
4. 受入機関名及び部局名  
Research and Innovation Centre, Foundation Edmund Mach
5. 所期の目的の遂行状況及び成果…書式任意 **書式任意 (A4 判相当 3 ページ以上、英語で記入も可)**  
(研究・調査実施状況及びその成果の発表・関係学会への参加状況等)  
(注)「6. 研究発表」以降については様式 10-別紙 1~4 に記入の上、併せて提出すること。

## 研究の背景と目的

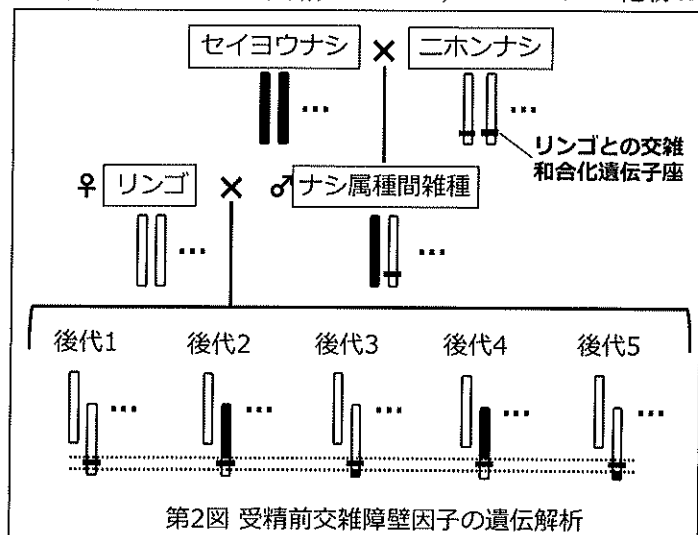
植物の生殖機構には、異種との交雑を避ける保守的な機構が備わっている。この「異種間交雑障壁」機構は、種の同一性を厳格に維持する機能を持ち、種分化や生殖隔離に働く。一方で、稀に種の壁を越えて異種ゲノムが融合した場合、新しい特性を持った新種が誕生する。新規作物や新品種作出に向けた育種過程において、交雑育種は農業生産上の諸課題を解決するための有効な手段であるが、同一種内の交雑から生じる表現型の多様性はしばしば限界を迎える。これに対して、異種間交雑は種特異的な農業生産上の課題を解決し、また各種の持つ有用形質を融合させた新しい作物を創出できる可能性を秘めている。しかし、植物はさまざまな交雑障壁機構を発達させており、雑種個体の作出には異種間交雑障壁を打破しなければならない。実際にこれまでも様々な作物種で雑種作出が試みられているが、一部を除けば、多くの有望な組み合わせでは未だに栽培可能な雑種の獲得には至っていない。

交雑障壁を支配する作用機作の解明は異種ゲノム融合技術の開発に直結するものであり、異種間での自由な遺伝子のやり取りを可能にするという点で従来の育種法の概念を覆す技術革新となる。本研究では特に、バラ科果樹の進化過程（第1図）で生じた受精前の交雑障壁機構を対象とした。果樹は短時間で種分化・栽培化されたものが多く、ゲノム配列や染色体数は近縁種間で高度に保存されている。一方、高い種間相同性においても、リンゴやナシなどを含むバラ科リンゴ亜連の異種間交雑では、リンゴを種子親とした場合の交雑和合性がナシ属種間で全く異なる挙動を示す。その作用機作の解明は、短時間で種の独立性、すなわち生殖隔離が促進されたモデルケースとなる。本研究の目的は、リンゴ亜連が形成した交雑障壁機構の解明によって、雑種果樹を効率的に作出するための基盤情報を提供することである。



### 【♀リンゴ×♂ナシの受精前属間交雑障壁を支配する候補因子の同定】

リンゴを種子親とした場合、セイヨウナシ花粉はリンゴと受精しないが、ニホンナシ花粉は受精可能であり、ニホンナシとセイヨウナシの種間雑種の花粉もリンゴと受精可能である。よって、ニホンナシはリンゴとの交雑和合化因子を有するものと推察される。申請者が見出したこの現象を遺伝解析に利用すると、♀リンゴ×♂ナシ属種間雑種の交雑後代では、セイヨウナシ由来の交雑障壁遺伝子座を避けるように染色体断片が遺伝し、その周辺領域ではニホンナシ由来の対立遺伝子

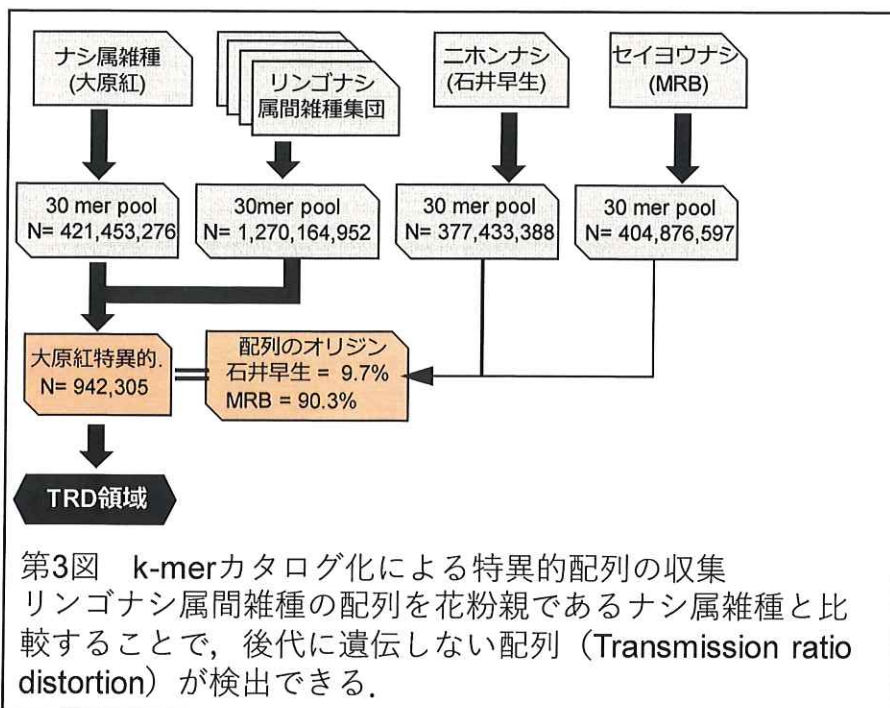


のみが遺伝するはずである。すなわち、第2図に示すように、♀リンゴ×♂ナシ属種間雑種の後代は、すべてニホンナシ由来の交雑和合化因子を有し、その周辺領域ではニホンナシ由来の対立遺伝子のみしか検出されない。本実験では全ゲノムワイドなゲノムシーケンス解析によって本遺伝モデルを検証するとともに、不均一に遺伝したこのゲノム領域を同定した。

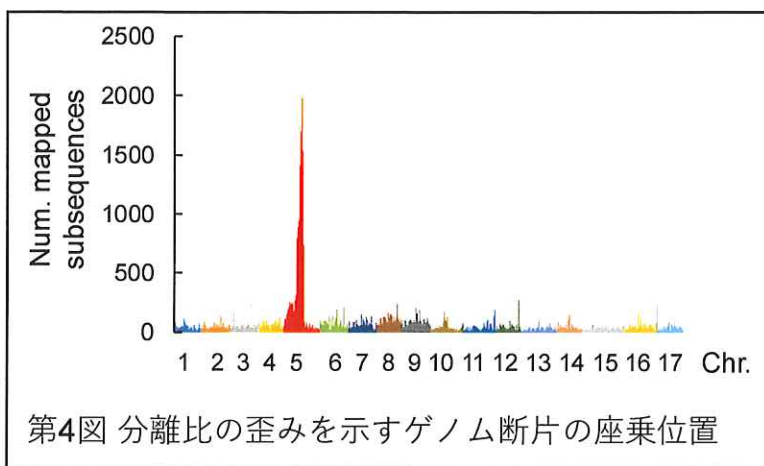
## 結果

リンゴを種子親として、ニホンナシとセイヨウナシの種間雑種（品種：大原紅）を交雑し、82系統から成るリンゴとナシの属間雑種集団を作出した。作出した属間雑種集団において、第2図に示した遺伝モデルのように歪んで遺伝したゲノム領域を同定するために、サブシーケンスカタログ化法（Akagi et al. 2014）を利用した。すなわち、ランダムゲノムリード（ペアエンド 150bp）を4つのプール；属間交雑集団、花粉親（ナシ属種間雑種）、花粉親の両親（ニホンナシ、セイヨウナシ）に分け、各プールのリードを30bpのサブシーケンスに分割した。その後、属間雑種集団と花粉親（ナシ属種間雑種）のサブシーケンスを比較することで、花粉親特異的な942,305個のサブシーケンスを網羅的に同定した（第3図）。このサブシーケンスは花粉親から属間雑種に遺伝しないゲノム断片であり、分離比の歪み（Transmission ratio distortion, TRD）に起因する。

次に、後代に特異的に遺伝しなかったサブシーケンスの由来を決定するために、ナシ属雑種の両親であるニホンナシとセイヨウナシのゲノム配列との比較解析を行った。特異的配列の大部分（85.6%）はセイヨウナシ由来のサブシーケンスと相同性を示したことから、交雑障壁に関与するゲノム領域ではニホンナシ由来のアレルが優先的に遺伝することが示唆された。これはリンゴ花柱でニホンナシ花粉は和合だが、セイヨウナシ花粉は不和合となる結果と一致した。以上の結果から、表現型観察に基づく異種交雑の成否をゲノムレベルでも確認することができた。



続いて、交雑障壁に関与するゲノム領域を同定するために、分離比が歪む 942,305 個のサブシーケンスのゲノム上での位置を相同性検索したところ、大部分の配列は第 5 染色体に相同性を示した (第 4 図)。また、第 5 染色体上の SSR マーカーを属間雑種集団で解析した結果、解析したすべ



第4図 分離比の歪みを示すゲノム断片の座乗位置

でのマーカーでニホンナシ由来のアレルが高頻度でみられた (データ略)。特に、第 5 染色体中に位置する SSR マーカー (NH020a, NB103a および CH05c06) では分離比がニホンナシ側に大きく偏っており、属間雑種集団に占めるセイヨウナシアレルの割合は 4-7% (期待値: 50%) であった。その他の染色体では、花粉親由来のアレル分離比に歪みは検出されなかった (データ略)。

以上の結果から、本研究で用いたリンゴとナシの属間雑種集団における受精前交雑障壁は第 5 染色体上の単一遺伝子座に支配されることが示唆された。第 5 染色体上での組換えを持つ個体を用いて、SSR マーカーおよびゲノムリードによるジェノタイピングを行ったところ、原因遺伝子座はリンゴゲノムを参照した場合、第 5 染色体上の 4.36 Mb に座乗することが示唆された。この領域には 235 遺伝子がアノテーションされており、このうち 80 遺伝子は花粉親 (ナシ属種間雑種) で発現していた (データ略)。また候補遺伝子の中には、S locus binding protein や Skip1-like protein などの自家不和合性に関与する遺伝子ファミリーに属する遺伝子が含まれており、有力な候補遺伝子として考えられる。

現在はニホンナシおよびセイヨウナシ品種の花粉トランスクリプトームを取得しており、候補遺伝子の発現差異の検出を進行中である。並行して、候補遺伝子の機能変異の可能性についても検討するために、本実験で取得したゲノムリードデータを用いた構造解析を進めている。本実験から果樹の交雑障壁を支配する遺伝子が特定されれば、新規雑種果樹を作出するための異種ゲノム融合技術開発への道が大きく拓けるだけでなく、未知の部分が多い植物の生殖隔離機構の成立過程についても重要な知見を提供することができる。

## 研究の遂行状況

派遣期間を 731 日から 132 日へ短縮したため、当初計画していた実験系すべてを遂行することはできなかった。しかし、全ゲノム解析により属間交雑を支配するゲノム領域を特定し、有力な候補遺伝子のいくつかを同定した。また、本実験結果を基盤として新たに構築した追加実験系を現在進行中であり、一部は学術論文として投稿段階にある。これらの状況を踏まえて、本研究で計画していた実験系は順調に遂行できていると判断でき、将来的な発展も大いに期待できる。

## 成果の発表・関係学会への参加状況

1. 2018年8月2日にアメリカで開催された American Society for Horticultural Science の Annual Conference に参加し, Recent advances in our understanding of self-incompatibility mechanism in *Prunus* from a genome-wide analysis について口頭発表を行った.
2. 現在, 得られたデータの一部は学術論文として国際誌に投稿中であり, その他についても順次投稿する予定である.