

テンサイ稔性回復遺伝子 *Rf2* 候補領域の DNA 構造多型解析

生物資源科学専攻 植物育種科学講座 遺伝子制御学 濱田 宏之

1. 緒言

細胞質雄性不稔性(CMS)とは、雌性生殖器官や栄養器官の発育には影響を及ぼさず、雄性器官特異的な発育異常が起こる遺伝性の雄性不稔である。CMSの発現モデルは、CMS原因ミトコンドリア遺伝子Sと花粉稔性回復核遺伝子*Rf*の相互作用で説明される。このモデルでは、Sを持たない正常細胞質(N)、あるいはSと*Rf*の両方を持つ場合([S]*Rf*)には正常な花粉が生産されるが、Sを持ち、かつ*Rf*が劣性ホモ接合([S]*rfrf*)の場合のみ不稔となる。CMSは理想的な種子親を提供できるため、一代雑種種子生産で広く利用される重要な育種形質である。テンサイでは、Owen(1945)が発見した雄性不稔細胞質が一代雑種種子生産に利用されている。一代雑種育種を進めるにあたっての問題は維持系統の選抜にある。テンサイ未選抜集団では維持系統遺伝子型の出現頻度が5%以下と極めて低く、検定交配に依存する維持系統選抜がテンサイ育種の律速となっている。この問題は分子マーカーによるマーカー援用選抜(MAS)により解決できると考えられるが、原因遺伝子の同定と対立遺伝子間の分子多型を明らかにする必要がある。Owenの仮定した2因子の*Rf*のうち、*Rf1*はクローニング済である(Matsuhira *et al.* 2012)。もう一つの*Rf2*は第4染色体上のおよそ400kbp領域に存在するPPRタンパク質をコードするORF8が候補とされている。本研究では、ORF8が*Rf2*の実体である証拠を得るべく、国内外の維持系統を用いてORF8および*Rf2*領域の構造多型解析を行った。また、*B. vulgaris*集団における*Rf*全体像の把握がテンサイ育種について重要な情報をもたらすと考えられるため、フダンソウ「仏国大葉」派生集団を用いて*Rf2*領域の構造多型解析を行った。

2. 結果と考察

稔性回復遺伝子型(E60型)と維持系統遺伝子型(TA-33BB-CMS型)を判別する12個のPCRマーカーを400kb領域全体をカバーするように作成し、国内維持系統13系統および海外維持系統11系統を材料にジェノタイピングを行った。維持系統選抜により、E60型アレルが取り除かれているものと期待した。しかしながら、全てのマーカー遺伝子座においてそのような傾向は認められず、むしろ各遺伝子座は維持系統内で多様性を示した。

仏国大葉とTA-33BB-CMSを検定交配し、F₁集団を得た。F₁集団では稔性回復個体と不稔個体が1:1に分離した。PCRマーカーを使って遺伝子型を調べると、E60型ORF8と花粉稔性回復が完全連鎖していることが明らかになった。世代を進めたBC₁F₁集団では、稔性回復と不稔は1:1に分離したものの、稔性回復の程度は低く、E60型ORF8の有無と稔性回復は一致しなかった。以上により、E60型ORF8が*Rf2*であるという証拠や、400kb領域に維持系統選抜と関連のある領域は見つかっていない。この原因として、*Rf2*の浸透度が低いことにより維持系統選抜で完全に優性アレルが取り除けていないこと、*Rf2*は単因子ではなく連鎖する複数因子であること、低い浸透度により正確な評価ができていないこと、などが考えられる。