

ホウレンソウの間性主働遺伝子座乗候補領域のゲノム構造解析

生物資源科学専攻 植物育種科学講座 遺伝子制御学 岩渕 恵佑

1. 背景および目的

ホウレンソウ (*Spinacia oleracea* L.) は雌雄異株植物として一般に知られているが、特定のホウレンソウ系統および品種から、様々な雌花率 (一株あたりの雌花割合) を示す間性株 (雌雄異花同株) を見出すことができる。現在、ホウレンソウの経済的 F₁ ハイブリッド採種では間性系統が積極的に利用されており、F₁ 育種のさらなる効率化に向けて間性発現機構の解明が必要とされている。これまでに、間性系統 03-336 の間性発現に関わる主働遺伝子 (*M*) が性染色体上で雄決定遺伝子 (*Y*) と約 15 cM の距離で連鎖していることを明らかにしてきた。本研究では、*M* 座乗候補領域の絞り込みおよび塩基配列の決定を試みた。

2. 材料および方法

間性固定系統 03-336 と雌雄異株系統 03-009 間の F₂ 集団 (82 個体) および性染色体をカバーする分子マーカーを用いて間性形質に関する QTL 解析を行った。次いで、系統 03-336 および 03-009 間の交雑後代 (F₄ および S₄BC₂F₁ など) から選抜した組換え型個体を用いて、*M* 座乗候補領域の絞り込みを試みた。次いで、*M* 座乗候補領域をカバーする系統 03-336 および 03-009 に由来する BAC ゲノムクローンの塩基配列を決定し、両系統における当該領域の塩基配列を比較した。さらに、RNAseq リードのマッピングによって、*M* 座乗候補領域に含まれる転写領域 (遺伝子領域) の同定を試みた。同定された遺伝子の発現は、RT-PCR によって調査した。

3. 結果および考察

QTL 解析により、マーカー SP_0052 および SP_0124 に挟まれた 1.3cM の領域に間性発現に関わる遺伝子 (*M*) が座乗することが示唆された。当該領域の組換え型個体を用いた解析により *M* 座乗候補領域を約 21 kbp に絞り込み、この領域の塩基配列を決定した。この塩基配列へ系統 03-336 および 03-009 に由来する RNAseq リードをマップした結果、この領域には少なくとも 4 つの遺伝子 (*M-ORF1* ~ *M-ORF4*) が座乗している可能性が示された。さらに、同領域から系統 03-336 および 03-009 間の構造変異が 45 個見出された。しかし、大多数の変異 (42) は遺伝子間領域に位置しており、残りの変異は *M-ORF2* および *M-ORF4* 座から見出された。*M-ORF4* 座から見出されたのは比較的小さな変異 (SNP および InDel [1 bp]) であり、イントロンに位置しているため発現に影響を及ぼす可能性が低いと考えられた。一方、*M-ORF2* 座からは約 800 bp の InDel 変異が見出された。次に、*M-ORF2* の InDel 変異サイトから見出された系統 03-336 に特異的な配列を標的とする RT-PCR 解析を行った。その結果、系統 03-336 の栄養成長期の地上部および花序に由来する全 RNA から cDNA が増幅されたが、系統 03-009 に由来する全 RNA からは増幅産物が得られなかった。今後は、*M-ORF2* に関して詳細な発現解析および形質転換系を用いた機能解析を行い、当該遺伝子と間性発現の関連性を検証することが課題となる。