

PF-045

ゼニゴケ DYRK 型タンパク質リン酸化酵素 MpYak1 は、無性芽の休眠と生殖器誘導の制御に関与する

新川 はるか, 梶川 昌孝, 西浜 竜一, 河内 孝之, 福澤 秀哉 (京大・院・生命科学)

植物の有性生殖誘導は、栄養、光条件など様々な外環境要因に影響される。緑藻では、dual-specificity tyrosine phosphorylation-regulated kinase (DYRK) ファミリーの Yak1 サブグループに属するタンパク質リン酸化酵素 TAR1 が、窒素欠乏に伴う配偶子誘導を正に制御する (Shinkawa et al., 2019)。陸上植物の DYRK は、Yak1・DYRKP・PRP4K の 3 つのサブグループに分類されるが、その生理機能は未解明な部分が多い。

本研究では CRISPR/Cas9 システムによりゼニゴケの MpYAK1 遺伝子欠損変異株 Mpyak1 を作出し、その形態学的変化と生殖器誘導について解析した。野生株において無性芽は杯状体内で休眠するのに対して、Mpyak1 の無性芽は杯状体内で発芽した。また、生殖器形成が誘導される遠赤色光照射かつ長日条件下において、Mpyak1 は雌雄共に生殖器形成の誘導日数が短縮され、生殖器の数が増加した。さらに、野生株では生殖器形成が誘導されない遠赤色光照射かつ短日条件下においても、Mpyak1 では生殖器形成が誘導された。以上の結果から、MpYAK1 が栄養生殖および生殖器誘導の調節に関与することが示唆された。

PF-047

イネ第 1 染色体に座乗する穂発芽耐性遺伝子座 *qSdr6a* のファインマッピングと候補遺伝子の解析

飯島 信繁¹, 佐野 舜一², 杉本 和彦³, 星野 友紀^{1,2} (1山形大院・農・生物資源, 2山形大・農・食料生命環境, 3農研機構・次世代作開研セ)

登熟中の種子が高温多湿によって発芽してしまう穂発芽は、穀物の品質低下を引き起こす重大な要因であり、人為的な穂発芽耐性付与は、安定した穀物生産を可能とする。穂発芽耐性は、複雑な分子メカニズムによって制御されていると考えられるが、その全体像は不明である。本研究では、インド稲品種 Nona Bokra が保有する量的形質遺伝子座 *qSdr6a* の候補領域を絞り込み、責任遺伝子の同定を試みた。組換え系統の表現型と遺伝子型の調査より、*qSdr6a* は 1,385 bp に絞り込まれた。この領域に予測される遺伝子は無かったことから、コシヒカリ (Ksh) と NIL を対象に、候補領域の近傍に位置する遺伝子の発現を解析した。その結果、*GeneX* の発現は登熟後期の吸水時に Ksh と比べて NIL で有意に低く、*GeneY* の発現は登熟初期の吸水時に Ksh と比べて NIL で有意に高かった。この結果から、*qSdr6a* の候補遺伝子は *GeneX* か *GeneY* のいずれか、あるいは両者であると考えられた。この仮説を検証するために、新規に構築したイネ突然変異集団から TILLING 法を用いて両遺伝子の突然変異体を単離した。これまでに、複数の *geneY* 突然変異体が易発芽性を示す結果を得たことから、*qSdr6a* の責任遺伝子は *GeneY* であることが強く示唆された。今後、同様に *geneX* 突然変異体の解析を行い、*qSdr6a* の責任遺伝子を特定したい。

PF-046

陸稲品種オワリハタモチの第 9 染色体に座乗する穂発芽耐性遺伝子座 *qSdr9.1* と *qSdr9.2* のファインマッピング

佐野 舜一¹, 飯島 信繁², 石川 広朗¹, 杉本 和彦³, 星野 友紀^{1,2} (1山形大・農・食料生命環境, 2山形大院・農・生物資源, 3農研機構・次世代作開研セ)

我々は、穂発芽耐性の分子機構の解明と有用アレルの育種利用を目指して、陸稲品種「オワリハタモチ」から作出された染色体断片置換系統を用い、第 9 染色体に穂発芽耐性遺伝子座 *qSdr9.1* と *qSdr9.2* を見出している。本研究では、新たに作出した組換え系統群を用いて、候補領域の絞り込みを行った。組換え系統の表現型と遺伝子型の調査より、*qSdr9.1* の候補領域は約 1 Mbp に絞り込まれた。この領域には、100 以上の遺伝子が存在しており、さらなる候補領域の絞り込みが必要とされる。一方、*qSdr9.2* は約 1.2 Mbp という比較的近い物理距離の中で 2 つの QTL の存在が示唆されたことから、この領域を短腕側からそれぞれ *qSdr9.2a* と *qSdr9.2b* と名付け、それぞれの領域を約 370 と 250 kbp に絞り込んだ。これら候補領域中には、*qSdr9.2a* で 34、*qSdr9.2b* で 30 の遺伝子が確認され、これら遺伝子のうちのいずれかが、穂発芽耐性を制御しているものと考えられる。さらに候補領域を絞り込み責任遺伝子を同定するために、本研究によって狭まった候補領域付近のみ「オワリハタモチ」アレルを有する系統をそれぞれコシヒカリと交配させ、新たな組換え系統の作出を試みており、今後詳細なマッピングにより責任遺伝子の特定を進めたい。本研究は、公益財団法人前川報恩会の研究助成により実施された。

PF-048

糸状菌ヒゲカビの重力感受に関与するタンパク質性結晶について

佐藤 慶治, 宮崎 厚 (石巻専大・理工・生物)

ヒゲカビ *Phycomyces blakesleeanus* は動物の糞に発生する糞生菌として知られる。次世代胞子の分散には、糞面から離れた上方へ胞子嚢柄を作ることが有利となるが、その時負の重力屈性が機能すると考えられる。これまでに重力感受においてスタトリシ的役割を持ち、胞子嚢柄の液胞に存在するクリスタルに注目してきた。その単離法である「2段階沈降法」の確立と SDS-PAGE により主バンドとして 55kD タンパク質を確認している。今回、そのタンパク質を MALDI-TOF MS に供した結果を報告する。

トリプシン処理サンプルから得られた PMF データをゲノムデータベース照合検索エンジン MASCOT により解析した結果は、スコア的にヒゲカビゲノム内に唯一のタンパク質を同定した。タンパク質の照合一致部位は C 末端側の 30% に集中し、機能未知であり、推定分子量は 85kD であった。分子量に疑問点は残るが、タンパク質の精製度、唯一の同定タンパク質である点を踏まえ、さらに解析を行った。blastp 検索では相同性 60% 以上を持つ生物種は接合菌類のみであった。そして、相同性が 40% 程度になり細菌タンパク質がヒットした。両者は ClustalW/njplot で明確に分岐した。ProtScale によりヒゲカビを含む 3 種の接合菌類を比べたところ、疎水性プロットパターンはよく類似し可溶性タンパク質であった (SOSUI でも追認)。MycCosm ゲノムデータは、比べた接合菌類においてヒゲカビのみが長いイントロンを持っていることを示した。