

令和元年度農学部特別研究費研究経過報告書

1. 研究者名 細川 宗孝
2. 研究課題名 40年間にわたって花の咲かないキャベツ変異体の非開花原因遺伝子の特定
～花の咲かない種子生産技術の開発に向けて～
3. 研究目的・内容

キャベツに代表される *Brassica oleracea* など多くのアブラナ科植物は低温に遭遇すると開花してしまう。本実験で用いたキャベツ‘不抽苔’は低温に遭遇しても開花しない非開花突然変異体である。この植物の非開花に関わる遺伝子を特定することが本実験の目的である。

4. 研究の経過

【不抽苔の RT-qPCR の解析】‘T15’（‘不抽苔’が出現した非変異集団から得た）および‘不抽苔’（‘不抽苔’超微小茎頂培養株）の *in vitro* 個体を用いて、実験を行なった。‘不抽苔’はプロトプラスト(pp)培養株で開花するため、pp 株も用いて開花経路で働く遺伝子群の発現解析を行なった。*BoFLC4* は‘T15’および‘不抽苔’ともに低温処理によって発現量が大きく低下し、*BoCO* はいずれにおいても有意差はみられなかった。したがって、‘不抽苔’は春化応答性および日長応答性については正常であると考えられた。*BoFT.C6* の発現量は‘T15’では低温処理後に大きく増加したが、‘不抽苔’ではわずかに増加したのみだった。*BoSOC1* の発現量は‘T15’および‘不抽苔’ともに増加したが、‘T15’の方が有意に高かった。一方、*BoTFL1* の発現量は低温処理前においては有意差がみられなかったものの、低温処理後は‘T15’と比べて‘不抽苔’において有意に高かった。以上より、‘不抽苔’の難開花性の直接的な原因は、(1) *BoFT.C6* の低発現、(2) *BoTFL1* の高発現 および (3) その両方 であると考えられた。

【不抽苔のリシーケンス解析】‘不抽苔’のリシーケンス解析を行ない、特に上記の遺伝子についての DNA 変異 (SNP, Indel) を調査したが、上記の遺伝子について‘T15’との遺伝子との違いは見られなかった。よって、上記遺伝子あるいはそのプロモーター領域などの直接的原因ではなく、トランス因子や植物ホルモンを介した非開花現象である可能性が考えられた。

【トランスクリプトーム解析】18 検体をトランスクリプトーム解析し、発現解析を行なった。RSEM の解析では、発現遺伝子が大きくスクリーニングされてしまうため、FPKM で上記の遺伝子の発現状況を見たところ、トランスクリプトーム解析はおおよそうまくいったと考えられた。そこで、R で統計処理を行なったところ、いくつかの遺伝子が低温処理前と後、および‘T15’と‘不抽苔’の間で発現に差が見られた。これらの遺伝子は開花経路に直接関連するものではないことから、花成との関連を結論するには詳細な実験が必要であると考えられた。

【マッピング集団の作成と遺伝子の特定】接ぎ木開花‘不抽苔’の自殖後代は 57% (21 個体中 12 個体) が開花した。開花日の中央値は 5 月 9 日であり、‘不抽苔’の 5 月 5 日より 4 日遅かったが、‘不抽苔’と概ね類似した分布を示した。頂芽の花芽分化の有無を確認したところ、11 個体中 1 個体のみが花芽分化しており、残りの 10 個体の頂芽は葉芽だった。プロトプラスト開花‘不抽苔’の自殖後代の開花率は 67% から 86% で、全体では 82% であり、接ぎ木開花‘不抽苔’の自殖後代と比較して高かった。頂芽の花芽分化を確認したところ、69 個体中 12 個体が花芽分化していた。接ぎ木開花‘不抽苔’×‘T15’(#43) の F₁ は 30 個体中 29 個体が開花した。開花シュート数は最多 14 本、最少 2 本とばらつきがあり、開花個体における平均開花シュート数は 8.2 本だった。プロトプラスト開花‘不抽苔’×‘T15’(#43) の F₁ の 2 個体はいずれも開花し、開花シュート数はそれぞれ 9 本および 7 本 (平均 8.0 本) だった。また、頂芽の花芽分化の有無を確認したところ、接ぎ木開花‘不抽苔’×‘T15’(#43) の F₁ は 25 個体中 1 個体のみが花芽分化しており、残りの 24 個体の頂芽は葉芽だった。プロトプラスト開花‘不抽苔’×‘T15’(#43) の F₁ は 1 個体のみ確認することができ、頂芽は花芽分化していた。

5. 本研究と関連した今後の研究計画

本年度の実験で開花株および非開花株の集団を作成することができた。来年度は、これらの集団を用いた whole genome methylation 解析を行う予定である。また、引き続きマッピング集団の開花状況を調査し、集団を増やす予定である。FT 遺伝子の抗体が完成したため、mRNA の発現解析だけではなく、タンパク質発現の視点からもデータを収集する予定である。