

山梨県若手研究者奨励事業 研究成果概要書

所属機関	山梨大学ワイン科学研究センター
職名・氏名	榎 真一

1 研究テーマ

ブドウの茎伸長を決定する要因の解明

2 研究の目的

樹勢(葉と茎の生育)が旺盛なブドウ品種では剪定などの栽培における作業労力が大きく、特に茎の伸長しやすい品種では茎と葉の成長に栄養が偏り、果実の収穫量や品質が低下しやすいという問題が存在する。しかしながら、(新梢)茎伸長のメカニズムはブドウでは未解明である。本研究では植物ホルモンの一種であるブラシノステロイド (BR) 及びその合成遺伝子 (*Vv90D1*) がブドウの茎伸長を決定付ける重要な要因であるとの仮説 (Fig. 1) を立て、その実証を行った。

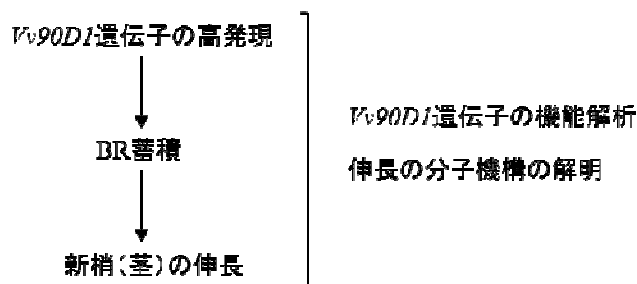


Fig. 1 本研究におけるブドウの茎伸長機構に対する仮説

3 研究の方法

まずブドウ樹を用いた圃場試験により BR 合成遺伝子 (*Vv90D1*) と茎伸長の関連性を明らかにし、この遺伝子の特性評価も同時を行った。また、生育の早いモデル植物であるシロイヌナズナに当該遺伝子を遺伝子導入し過剰発現させた形質転換体を作成し、目的のブドウの BR 合成遺伝子の詳細な機能解析を行った。これらにより、当該遺伝子の高発現によって BR が蓄積し、ブドウの茎が伸長するという上記の仮説を検証し、ブドウの茎伸長現象におけるメカニズムの解明を試みた。具体的な研究内容として以下の試験を行った。

1. ブドウ樹における *Vv90D1* 遺伝子と新梢伸長の関連性
2. *Vv90D1* 遺伝子の特性評価
 - (1) 当該遺伝子の系統解析
 - (2) ブドウの各組織における *Vv90D1* 遺伝子発現量
3. *Vv90D1* 遺伝子の機能解析
 - (1) 形質転換シロイヌナズナによる遺伝子機能解析
 - (2) *Vv90D1* の作用機構の解明

留意事項

- ① 3枚程度で作成してください。
- ② 特許の出願中等の理由により、一定期間公表を見合わせる必要がある箇所がある場合であっても、所定の期日までに公表可能な範囲で作成・提出してください。当該箇所については、後日公表可能となった際に追記して再提出してください。

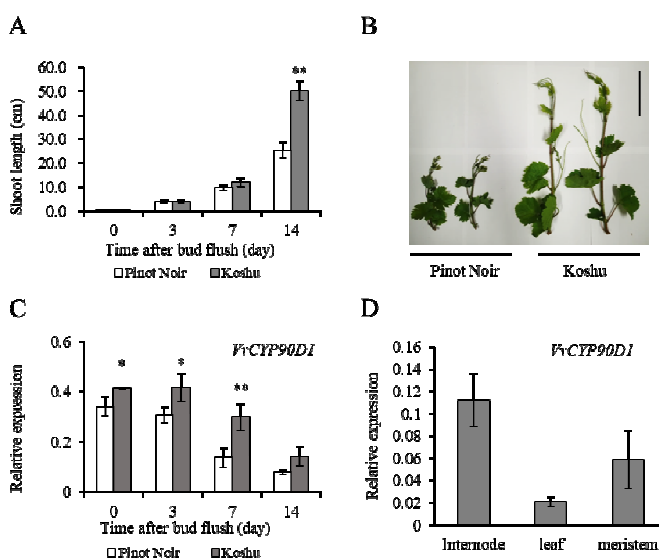
4 研究の成果

1. ブドウ樹における *Vv90D1* 遺伝子と新梢伸長の関連性 (成果 1)

2. *Vv90D1* 遺伝子の特性評価 (2) ブドウ各組織における *Vv90D1* 遺伝子発現量 (成果 2)

結果を Fig.2 に示した。ブドウ樹 2 品種比較により、新梢長 (Fig. 2 A, B) の長い品種ほど BR 合成遺伝子 (Fig. 2C) が高く発現していることが確認された。また組織別発現量の調査 (Fig. 2D) は、当該遺伝子が茎>茎頂>葉の順で高く発現することを明らかにした。これにより茎伸長と当該遺伝子発現の関係が示唆された。

Fig. 2 (成果 1, 2) ブドウ品種 (ピノ・ノワールと甲州の比較) における新梢長と BR 合成遺伝子の関係。A: 新梢長、B: 写真、C: BR 合成遺伝子発現量、D: 組織別発現量。



2. (1) 当該遺伝子の系統解析 (成果 3)

本研究で単離した当該遺伝子の配列解析と他植物を含めた系統解析により、3-epi-6-deoxocathasterone 23-monooxygenase 酵素をコードする Cytochrome P450 *90D1* (*90D1*)がこの遺伝子のグループ名であることが明らかになったため、本研究ではこの遺伝子をブドウ属 (*Vitis Vinifera*) 由来の *Vv90D1* 遺伝子と仮称している。この遺伝子は他の植物で BR 合成の促進機能が報告されているため以降で詳細な機能解析を試みた。

3. *Vv90D1* 遺伝子の機能解析 (1) 形質転換シロイヌナズナによる遺伝子機能解析 (成果 4)

上記の目的遺伝子の詳細な機能解析のために、生育が早いモデル植物のシロイヌナズナにこの遺伝子を導入させ過剰発現した形質転換体を作成し、形質転換第一世代 (T1) まで組み換えの成否を検定した。目的遺伝子以外の遺伝的背景が同じであるこのサンプル間比較により、*Vv90D1* 遺伝子と花序 (茎) の伸長関係を調査した。茎長は *90D1* 遺伝子の発現量順に *Vv90D1* > wild > *At90d1* となり (Fig. 3)、Fig. 1 の仮説における *Vv90D1* 遺伝子の高発現→茎伸長というメカニズムの解明がされ、ブドウ *Vv90D1* 遺伝子が茎伸長機能を有することが明らかとなった。

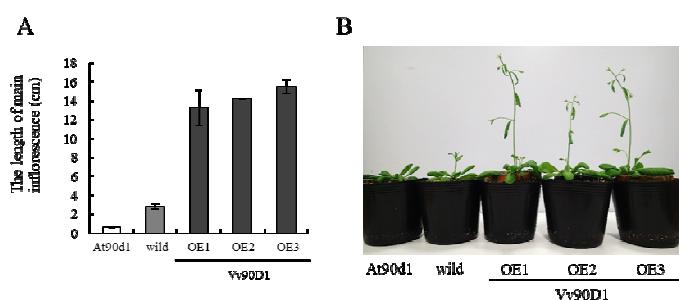


Fig. 3 (成果 4) シロイヌナズナ形質転換体における茎長と BR 合成遺伝子の関係。At90d1: 90d1 欠損体、wild: 対照区、*Vv90D1* (OE1~3): *Vv90D1* 形質転換体 3 系統。

留意事項

- ① 3 枚程度で作成してください。
- ② 特許の出願中等の理由により、一定期間公表を見合わせる必要がある箇所がある場合であっても、所定の期日までに公表可能な範囲で作成・提出してください。当該箇所については、後日公表可能となった際に追記して再提出してください。

5 今後の展望

本研究は、ブドウの茎伸長現象のメカニズムの解明を目的に行ったものである。期間中には、上記の研究成果報告内容に記述したように、仮説 (Fig.1) における、当該遺伝子の高発現による茎伸長というメカニズムの一端を解明することができた。

しかし、上記3.(1)の試験は、遺伝子発現がまばらなヘテロ系統 (T1 世代) で行ったものであり、遺伝子機能解析データとして学術論文に投稿する際には不十分なものである。このため今後は遺伝子発現の安定したホモ系統 T2 世代を作成し同様の試験により、この遺伝子機能の証明を完全なものにする予定である。

また当初の計画では、仮説の中間部分である BR 蓄積の箇所、すなわち実際にこの遺伝子の発現により、BR 含量が増えていること、BR 関連化合物の種類に変化があるかなどを外注分析により同定し、計画書の3(2) Vv90D1 の作用機構の解明、を行う予定であった。しかし残念ながら、本研究期間中にはシロイヌナズナ形質転換体の準備の遅れから、計画の完遂には至らなかった。

今後は上記の内容について、別途資金を工面してどうにか試験を進め、結果を出していきたい。また資金調達がかなわなかった場合でも、現状までの遺伝子機能解析までの成果を完遂し学術論文として世に発表する所存である。

またその後は、これらの成果知見を活かし茎調整技術の開発による栽培省力化や果実高品質化など、農芸科学分野の応用研究に取り掛かりたい。それらは山梨の地場産業でもあるブドウ果樹、ワイン産業への貢献が可能であると考えられるため、積極的に推進していきたい。

6 研究成果の発信方法 (予定を含む)

本研究の成果は、国内の農業関係者に向け園芸学会での発表および世界中への成果発表を目的に海外の学術雑誌への投稿掲載を考えている。上記展望にある程度の目途が付いたら、これらの方法による発信は必ず行いたい。

また併せて、今年県で行われる予定の成果報告会は当然の事、機会を見て山梨大学の HP など広報に掛け合い、県民や専門分野内外の関係者へ向けて、広い情報発信を行っていく予定である。

留意事項

- ① 3枚程度で作成してください。
- ② 特許の出願中等の理由により、一定期間公表を見合わせる必要がある箇所がある場合であっても、所定の期日までに公表可能な範囲で作成・提出してください。当該箇所については、後日公表可能となった際に追記して再提出してください。