

食と農の総合研究所研究プロジェクト 研究経過報告書

研究課題	ライムギ由来の超小型染色体に座乗する細胞質機能回復遺伝子の同定 – 新規雑種コムギの育成とコムギ人工染色体の構築を目指して –
研究種別	<input checked="" type="checkbox"/> 共同 <input type="checkbox"/> 個人
研究組織	遠藤 隆（農学部・教授）研究代表者 竹中 祥太郎（農学部・実験・実習助手） 村田 稔（トゥンク アブドゥル ラーマン大学理学部・教授）
キーワード	(1) コムギ (2) ライムギ (3) ミジェット染色体 (4) 人工染色体 (5) 細胞質置換系統 (6) フローサイトメトリ

1. 2018 年度の研究計画(簡潔にまとめて記入してください。)

本研究はミジェット染色体の全 DNA 解析を目指している。本年度は、フローサイトメトリによる染色体ソーティング技術によりミジェット染色体の単離を計画した。その手順は以下の通りである。

1. ミジェット染色体添加系統の増殖：ライムギ細胞質を持つ六倍性コムギにミジェット染色体が 1 対添加されている系統を栽培し、種子の増殖を行う。
2. ミジェット染色体の単離：増殖したミジェット染色体添加コムギ系統の種子をチェコ共和国の実験植物学研究所に送り、染色体ソーティングを委託する。
3. ミジェット染色体 DNA の入手：染色体ソーティングによりミジェット染色体だけが高純度で単離できた場合、その DNA をそのまま、あるいは、増幅した DNA を龍谷大学まで送ってもらう。
4. ミジェット染色体 DNA の全塩基配列決定：年度末までに十分量のミジェット染色体 DNA 入手できた場合、塩基配列決定を行う。

2. 研究成果の概要(1 ページ程度)

本年度は計画した以上に研究が進展した。その概要は以下のとおりである。

1. ミジェット染色体添加系統の増殖：ミジェット染色体が 1 対添加されている六倍性コムギ系統 28 個体をビニールハウス内で栽培し、それらから自家受精種子を合計約 1.6 kg 収穫した。この量は、約 3 万 2 千粒に相当し、染色体ソーティングには十分以上の数であった。このうちから約 280 g を実験植物学研究所に送った。
2. ミジェット染色体の単離：実験植物学研究所では何回かの試行の結果、ミジェット染色体をかなりの高純度で単離できる条件を確定し、大規模なミジェット染色体ソーティングを 3 回行った。
3. ミジェット染色体 DNA の入手：ソーティングした染色体の DNA の塩基配列決定では、通常、単離した染色体を元に PCR 法により染色体 DNA 全体を増幅する。実験植物学研究所では 3 回のミジェット染色体ソーティング後に染色体 DNA 増幅を試みたが、何らかの理由でいずれも失敗した。そこで、ソーティング後のミジェット染色体を龍谷大学に冷凍航空便で送ってもらい、龍谷大学でミジェット染色体 DNA 増幅を試みた。その結果、ミジェット染色体 DNA は上手く増幅され、塩基配列決定に十分量の DNA が確保された。この成功は最新の全ゲノム増幅試薬キットを用いたことが原因かもしれない。
4. ミジェット染色体 DNA の全塩基配列決定：塩基配列決定に十分量のミジェット染色体 DNA が入手できたので、塩基配列決定のための業者との打合せを行い、DNA の準備を行った。しかし納品が年度末予算執行締切までに間に合わないことが判明したので、塩基配列決定は当初計画通り 2019 年度に行うことになった。
5. 1R 染色体長腕断片系統の調査：ミジェット染色体はライムギの 1R 染色体の長腕の一部であることは先行研究から明らかになっている。その染色体領域を可能な限り特定するため、当初計画には記載しなかったが、遠藤が保有している 1R 染色体の断片系統を 15 系統とミジェット染色体添加系統を栽培し、交配及び交配子孫の染色体構成を調査した。この調査は 2019 年度にも引き続き行われる。

3. 収支報告

別途配付する支出状況表に基づき、記入してください。期中で研究計画の変更に伴う予算修正をおこなった場合は、その経緯についても説明してください。

2018年度の予算は、十分執行できず 334,960 円の執行残高が生じた。その原因は以下の通りである。

1. 業務委託費の未執行：当初計画ではミジェット染色体 DNA が予定より早く入手できた場合を想定して、DNA 塩基配列決定のための業務委託費を計上していた。2019年2月時点で塩基配列決定に十分量のミジェット染色体 DNA が入手でき、業者に委託する準備はできていたが、業者の事前情報とは異なり、年度末までに納品が不可能ということが判明した。
2. 出張費の未執行：当初計画では遠藤がチェコ国実験植物学研究所に出向いて、ミジェット染色体ソーティングで技術的困難が生じた場合の協議を行う予定であったが、ソーティング自体の条件設定が予想外に簡単に済み、わざわざ遠藤が出張する必要がなくなった。

年度末近くになって以上のような事情が明らかになったので、未執行予算を消耗品で執行しようと見積書まで入手したが、業者の事前情報とは異なり、年度末までに納品が不可能ということが判明した。

この他、当初計上していなかった用品費は、コムギの各種系統を栽培・交配するための用品購入に必要となった。