

PCR 法によるソメイヨシノ開花予測技術の開発
～つぼみから開花に至るまでの遺伝子のはたらきを解析～

◆本件のポイント！

- ・サクラを代表する人気品種ソメイヨシノで遺伝子¹⁾発現に基づいた開花予測技術を開発。
- ・各地のお花見スポットごと、もしくは樹1本ずつの開花予測が可能となり、お花見の計画やイベント設営の最適化が期待される。
- ・さらに、本技術の応用により、気候変動によって年々難しくなっている果樹の開花日予想の精度が向上し、安定して高品質な果実の収穫が可能となる。

◆概要内容

現在、ソメイヨシノの開花予測は、「温度変換日数法²⁾」という、花芽の生育過程に影響を与える気温の変化に基づいて行われています。今回、島根大学生物資源科学部 江角智也 准教授は、かずさDNA研究所、京都府立大学との共同研究で、遺伝子の発現をPCR法で解析することで開花時期を予測する新しい技術を開発しました。

ソメイヨシノは、春になり気温が安定して上昇したことを感知して、開花に関わる複数の遺伝子の発現が変化することで開花します。しかし、これまでソメイヨシノの開花に関する分子生物学的な解析はほとんど行われていませんでした。

本研究では、2019年に解読したソメイヨシノのゲノム配列情報を活用して、遺伝子発現の変化を解析し、開花に向けて形態的变化に寄与していると考えられる関連遺伝子を網羅的に明らかにしました。その中から、年次や場所に関わらず、開花の10-20日前および0-10日前に特徴的に発現量が変化する遺伝子を特定し、それら遺伝子の発現の変化をリアルタイムPCR法³⁾で調べることで、開花日が予測できるようになりました。

本研究成果により、各地のお花見スポットそれぞれ、もしくは1本1本のソメイヨシノ樹の開花日の予測精度を向上させ、お花見の日程計画やイベント設営の最適化が行えるようになります。また、ナシやオウトウといった果樹における開花日の予測精度が向上することによって、開花後の受粉作業など栽培管理を計画的に行うことが可能となり、安定して高品質な果実を得ることができるようになります。

※研究詳細は、添付資料をご覧ください。

-----用語説明-----

- 1) 親から子へと遺伝する、あるいは細胞から細胞へと伝えられる形質を決定する因子であり、生物の体を作り動かすのに必要なタンパク質などを作るための設計図のことで、その本体はDNAである。
- 2) いったん休眠に入った花芽が、冬季に一定期間低温にさらされ休眠から覚める、いわゆる「休眠打破」により、成長を開始した日からの気温を用いた積算モデルにより、開花時期を推定するもの。通常は過去何年分かの日別気温と開花日の情報

により、起算日などの適切な諸条件を設定している。

- 3) DNA断片を増幅するためのサーマルサイクラーと、DNA量をモニターするための分光蛍光光度計を一体化した専用の装置を用いて、DNA断片の増幅量をリアルタイムでモニターし解析する方法。新型コロナウイルスの陽性確認PCRにも用いられている。遺伝子転写産物(mRNA)を解析するためには、逆転写によりRNA断片に相補的なDNA鎖を合成したのちに、PCRを行う。

◆本件に関する写真



◆本件の連絡先

<報道に関すること>

島根大学 企画部企画広報課広報グループ

TEL：0852-32-6603

E-mail: gad-koho@office.shimane-u.ac.jp

<研究に関すること>

島根大学 生物資源科学部 農林生産学科

准教授 江角 智也 (えすみ ともや)

TEL：0852-32-9845

E-mail: esumi@life.shimane-u.ac.jp



【添付資料： あり（ 6枚） なし】

PCR 法によるソメイヨシノ開花予測技術の開発

～つぼみから開花に至るまでの遺伝子のはたらきを解析～

令和4年2月18日

公益財団法人 かずさDNA研究所
国立大学法人 島根大学
京都府公立大学法人 京都府立大学

- ◇ かずさDNA研究所、島根大学、京都府立大学は共同で、サクラを代表する人気品種であるソメイヨシノで遺伝子*1発現*2に基づいた開花予測技術を開発しました。
- ◇ 現在、サクラの開花予想は、花芽の生育過程に影響を与える気温の変化に基づいて行われていますが、遺伝子の発現を PCR 法で解析することにより、ソメイヨシノの開花時期を予測できるようになりました。
- ◇ この技術は、同じバラ科のナシやモモをはじめとする、さまざまな果樹の開花予測への応用が可能です。
- ◇ 研究成果は、国際学術雑誌 Frontiers in Plant Science において、1月26日にオンライン公開されました。また、3月17日(木)から23日(水)に開催される園芸学会令和4年度春季大会(オンライン)にて発表いたします。

<報道に関すること>

公益財団法人かずさDNA研究所 広報・研究推進グループ TEL: 0438-52-3930
国立大学法人島根大学 企画部企画広報課広報グループ TEL: 0852-32-6603
京都府公立大学法人京都府立大学 事務局学務課 TEL: 075-703-5179

<研究に関すること>

かずさDNA研究所 植物ゲノム・遺伝学研究室
主任研究員 白澤 健太(しらすわ けんた) TEL: 0438-52-3935
島根大学 生物資源科学部 農林生産学科
准教授 江角 智也(えすみ ともや) TEL: 0852-32-9845
京都府立大学 生命環境科学研究科 応用生命科学専攻
教授 板井 章浩(いたい あきひろ) TEL: 0774-93-3253

1. 背景

サクラはバラ科サクラ属の鑑賞用落葉樹種の総称で、エドヒガン (*Cerasus spachiana*)、オオシマザクラ (*C. speciosa*)、ヤマザクラ (*C. jamasakura*) などの基本野生種を祖先として多くの品種が作出されました。そのうち、ソメイヨシノ (*C. × yedoensis*) は、エドヒガンとオオシマザクラの種間雑種です。ソメイヨシノは挿し木などによりクローン^{*3}増殖され、明治以降、世界中に寄贈され、多くの人々の目を楽しませています。

現在、ソメイヨシノの開花予想は、「温度変換日数法^{*4}」を用いており、各地のサクラの開花日予測は開花前線の形で発表されています。何らかの方法で、各地のお花見スポットそれぞれ、もしくは1本1本のソメイヨシノ樹の開花日の予測精度を向上させることができれば、お花見の日程計画やイベント設営の最適化が行えるようになるでしょう。

温度変換日数法が有効なのは、ソメイヨシノの開花に働く何らかの遺伝子が冬を越して気温の上昇を感知しながら次々と発現されるからと考えられます。つまり、開花に関わるそれらの遺伝子が特定できれば、遺伝子の発現量の変化をモニターすることにより開花日を予測できるようになります。

しかし、これまで、ソメイヨシノの開花に関する分子生物学的な解析はほとんど行われていませんでした。それは、ソメイヨシノはエドヒガンとオオシマザクラの種間雑種のため、2つのゲノム^{*5} (2倍体) をもつなどゲノム構成が複雑で、解析が容易ではないからです。そこで本研究グループでは、2019年にソメイヨシノのゲノム配列を解読しました。そして、この情報を活用して遺伝子発現の変化を解析し、新たな開花予測手法の開発に取り組みました。

2. 研究成果の概要と意義

- ① かずさDNA研究所、島根大学、京都府立大学はそれぞれに植栽されているソメイヨシノを用いて、つばみの転写産物の経時変化を解析^{*6}し、開花に向けて形態的变化に寄与していると考えられる関連遺伝子を網羅的に明らかにしました。
- ② 開花の1ヶ月前までは、器官発達に関わる遺伝子をはたらいていることがわかり、その後、開花2-3週間前までには細胞壁の構築や伸展または分解に関係する遺伝子と共に、糖の代謝や、細胞への無機物質、アミノ酸および水などの輸送に関する遺伝子が順々にはたらいっていき、さらに、おしべやめしべの発達に関する遺伝子をはたらくことがわかりました。そして開花後には、外部刺激に対する遺伝子や細胞間の連絡に関する遺伝子も追いかけるようにはたらき出します。いずれの遺伝子も、花器官の組織や細胞の劇的な肥大、花柄 (かへい) の伸長成長、鱗片 (りんぺん) 脱離などの形態変化との関係性が考えられました。
- ③ 年次や場所に関わらず、開花の10-20日前および0-10日前に特徴的に発現量が増加する遺伝子 (*CBFb* と *CBFg*) をそれぞれ開花予測遺伝子として、恒常的に発現する遺伝子 (*CBFt*) を比較対象 (コントロール) として選抜しました。そして、ハンディタイプの解析装置を利用したリアルタイムPCR法^{*7}によりこれらの遺伝子の発現量を測定し、各遺伝子の発現量を統計的に処理した結果、開花日が予測できるようになりました。

3. 将来の波及効果

- ① ハンディタイプのPCR解析装置とモバイルPC等を用いて、大型の解析装置を使用することなく簡単に開花日を予測できるようになります。
- ② 果樹のナシやオウトウなどは、開花後の受粉作業（例えば、ポリネーション：花粉媒介昆虫を使って作物の交配を行うこと）などの栽培管理を計画的に行う必要があります。今回開発した技術を応用することにより、気候変動により年々難しくなっている開花日予想の精度が上がり、安定して高品質な果実を得ることができるようになります。

この研究は、かずさDNA研究所の助成によって行われました。

論文タイトル：Cherry Blossom Forecast Based on Transcriptome of Floral Organs Approaching Blooming in the Flowering Cherry (*Cerasus* × *yedoensis*) Cultivar 'Somei-Yoshino'

著者：Kenta Shirasawa, Tomoya Esumi, Akihiro Itai, Sachiko Isobe

掲載誌：Frontiers in Plant Science 802203 (2022)

DOI：https://doi.org/10.3389/fpls.2022.802203

園芸学会令和4年春季大会（3月17～23日オンライン）

演題：‘ソメイヨシノ’の萌芽から開花における形態変化とトランスクリプトーム解析から捉えた生理的变化の特徴

発表者：江角智也・白澤健太・板井章浩・磯部祥子

演題：RNA分析による‘ソメイヨシノ’の開花予測技術の開発

発表者：白澤健太・江角智也・板井章浩・磯部祥子

参考文献：ソメイヨシノのゲノム解説

論文タイトル：Phased genome sequence of an interspecific hybrid flowering cherry, Somei-Yoshino (*Cerasus* × *yedoensis*)

著者：Kenta Shirasawa, Tomoya Esumi, Hideki Hirakawa, Hideyuki Tanaka, Akihiro Itai, Andrea Ghelfi, Hideki Nagasaki, Sachiko Isobe

掲載誌：DNA Research 26(5) 379-389 (2019)

DOI：https://doi.org/10.1093/dnares/dsz016

用語解説

- *1 遺伝子：親から子へと遺伝する、あるいは細胞から細胞へと伝えられる形質を決定する因子であり、生物の体を作り動かすのに必要なタンパク質などを作るための設計図のことで、その本体は DNA である。
- *2 (遺伝子) 発現：遺伝子の情報が細胞の構造などさまざまな生体機能をもつタンパク質の合成を通じて具体的に現れることをいう。狭義には、ある遺伝子に対応する遺伝子転写産物 (mRNA) が合成されていることをいう場合もある。
- *3 クローン：遺伝的に同一である個体や細胞 (の集合) のこと。
- *4 温度変換日数法 (DTS)：いったん休眠に入った花芽が、冬季に一定期間低温にさらされ休眠から覚める、いわゆる「休眠打破」により、成長を開始した日からの気温を用いた積算モデルにより、開花時期を推定するもの。通常は過去何年分かの日別気温と開花日の情報により、起算日などの適切な諸条件を設定している。簡便法として、600°Cの法則「2月1日以降の最高気温の累積温度が600度を超えた日に桜が開花する」、400°Cの法則「2月1日以降の平均気温の累積温度が400度を超えた日に桜が開花する」が知られている。
- *5 ゲノム：生物をその生物たらしめるのに必須な最小限の染色体のひとまとまり、または DNA 全体のことをいう。
- *6 転写産物解析：細胞の遺伝子転写産物 (mRNA) を次世代シーケンサー**で配列解析することにより、ゲノム解析で遺伝子と推定された部分について mRNA 量を測定し、遺伝子の発現状況を網羅的に把握することを目的としている。トランスクリプトームとも言う。
**次世代 (第2世代) シーケンサー：ランダムに切断された数千万から数億の DNA 断片の塩基配列を同時並行的に決定することができる装置。イルミナ社のシーケンサーでは、フローセルと呼ばれるスライドガラス上に断片化した1本鎖の DNA を張り付け、断片の相補鎖を合成しながら配列を決定することによって、塩基配列を決定する。RNA を解析するためには、逆転写により RNA 断片に相補的な DNA 鎖を合成したのちに、配列解析を行う。
- *7 リアルタイム PCR 法：DNA 断片を増幅するためのサーマルサイクラーと、DNA 量をモニターするための分光蛍光光度計を一体化した専用の装置を用いて、DNA 断片の増幅量をリアルタイムでモニターし解析する方法。新型コロナウイルスの陽性確認 PCR にも用いられている。遺伝子転写産物 (mRNA) を解析するためには、逆転写により RNA 断片に相補的な DNA 鎖を合成したのちに、PCR を行う。

参考資料

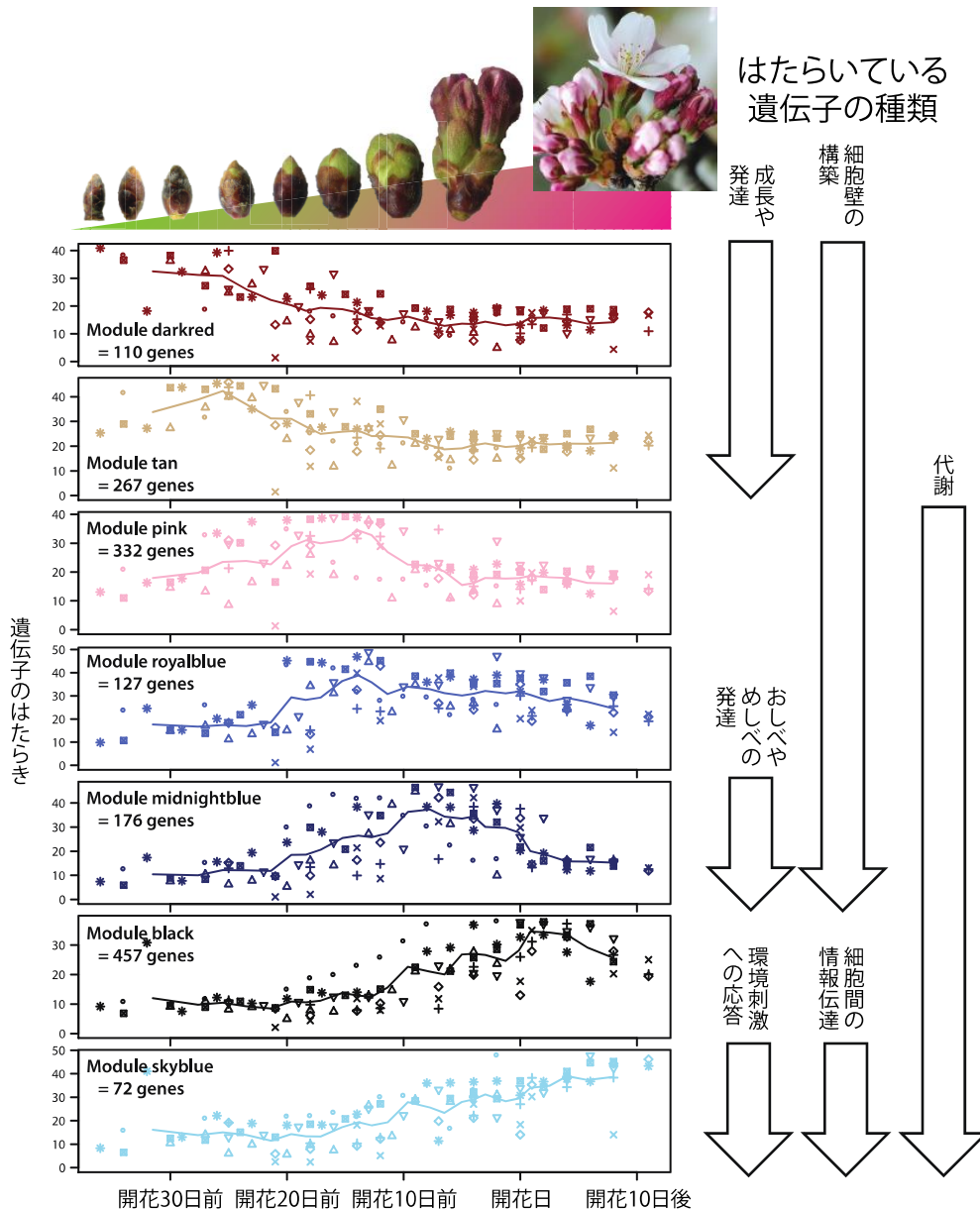


図 1. ソメイヨシノの萌芽から開花の時期に発現する遺伝子群とその発現量の変化 (発表論文データより作成)

国内 3 地点の複数のソメイヨシノ樹で、花芽～つぼみ～花の組織の経時的なサンプルを用いて全転写産物解析を行った。データ解析手法のひとつである WGCNA (weighted gene correlation network analysis) により、萌芽 (ほうが) から開花の時期に同調・関連して発現量に変化する遺伝子群を見出し、中でも特徴的な変化を示す 7 つのモジュールを抜粋して掲示した。各モジュールに含まれる遺伝子の機能や役割については、遺伝子データベースの情報を参照し、主なものを記述した。各グラフの縦軸は遺伝子の発現量に相当する。萌芽から開花までに働く様々な遺伝子の発現変動を、上図のように全体像としてまとめたことで、正確な開花日予測が可能となった。

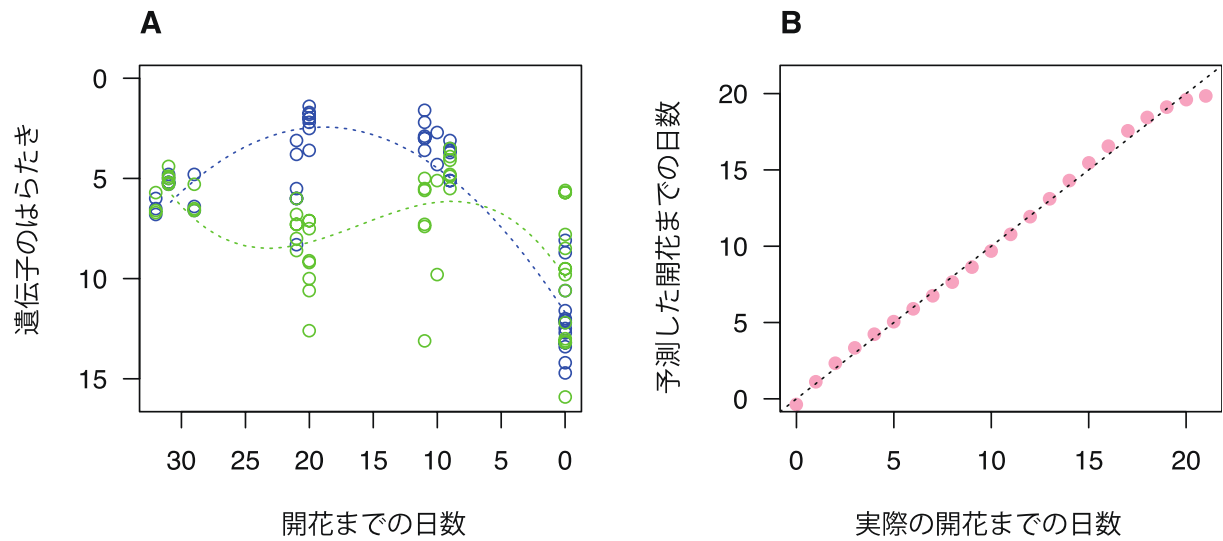


図 2. 開花予測遺伝子の発現量変化 (A) と予測された開花日 (B)

A. 青と緑のプロットはそれぞれ、開花 30 日前から開花当日までの *CBFb* と *CBFg* の遺伝子のはたらきを示す。B. 縦軸で遺伝子のはたらきから予測した開花までの日数を、横軸に実際の開花までの日数を示す。