

平成 21 年 5 月 19 日現在

研究種目：基盤研究（A）

研究期間：2006～2009

課題番号：18208001

研究課題名（和文） サイズ形質遺伝子座領域の物理地図作製と塩基配列解析

研究課題名（英文） Construction of physical maps and sequence analyses of the genome regions including trait loci in soybean

研究代表者

原田 久也（Harada Kyuya）

独立行政法人農業生物資源研究所 サイズゲノム研究チーム チーム長

研究者番号：70011913

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学・育種学

キーワード：植物育種・遺伝、植物ゲノム

1. 研究計画の概要

これまでのサイズ形質遺伝子座の解析から、根粒着生制御遺伝子、Nod ファクター受容体遺伝子、伸育性制御遺伝子、7S グロブリン欠失性遺伝子、開花期関連 QTL、タンパク質関連 QTL 等の重要な遺伝子座を同定した。本研究はこれらの遺伝子座の精密マッピングを行い、その近傍領域について、BAC クローンのコンティグを作製して、そのうち最も重要と考えられる数百 kb の塩基配列を決定する。ホモロジーサーチと遺伝子予測プログラムを併用して、遺伝子構造のモデリング、機能注釈を行い、その領域に存在する遺伝子とその機能を推定する。

2. 研究の進捗状況

(1)根粒着生制御遺伝子 *Nts1* を含む BAC クローン(約 130kb)の解析により、15 の遺伝子と 4 つの偽遺伝子を同定した。*Nts1* の同祖遺伝子と考えられる *GmCLV1A* を含む BAC コンティグ(約 250kb)から 27 の遺伝子を見出した。両領域の間にシンテニーがあるが、遺伝子の向きは逆であった。

(2)Nod ファクター受容体遺伝子をコードする 2 つの遺伝子、*GmNFR1a*、*GmNFR1b* を含む BAC クローンから、各々 13、16 の遺伝子、2、3 の偽遺伝子を同定した。これらのうち、16 遺伝子の順序と向きが保存されていた。

(3)伸育性遺伝子 *Dt1* 領域については約 80kb の BAC クローンの中に 21 の遺伝子が同定され、*Dt1* の候補遺伝子が含まれていた。

(4)7S グロブリン欠失性遺伝子 *Scg-1* の領域には 2 つの α サブユニット遺伝子、1 つの β サブユニット遺伝子、偽遺伝子化した 1 つの α サブユニットが見出された。2 つの α サブ

ユニットは逆向き反復配列となっていた。変異体ではこの 2 つの遺伝子間が短くなっていて、転写のときにリードスルーが起こり、転写後発現抑制が起こることが予想された。

(5)開花期関連 QTL である *FT1* は、17kb の領域に絞り込まれた。そこにひとつの候補遺伝子を見出した。

(6)開花期関連 QTL である *FT2* については、存在領域が約 100kb に絞り込まれ、候補遺伝子を得た。

(7)タンパク質含量 QTL である *PRO1* については、近傍に位置づけられる 11 の AFLP マーカーを見出した。

(8)フィトクローム A 遺伝子 *GmphyA1* を含む約 239kb の BAC コンティグから 12 の遺伝子と 5 つのトランスポゾンを見出した。そのパラログである *GmphyA2* 遺伝子を含む約 194bp の BAC クローンには 16 の遺伝子と 6 つのトランスポゾンがあり、遺伝子密度は低い *GmphyA1* を含む領域とシンテニーがあった。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進呈している。ほとんどの遺伝子座は当初の計画かそれ以上に進展しているが、*PRO1* だけが予定より遅れている。

4. 今後の研究の推進方策

(1)根粒着生の制御に関与すると考えられる *GmKLV* 遺伝子を含む BAC コンティグを作製して、この領域に存在する遺伝子とその機能を推定する。

(2)開花期関連遺伝子座 *FT3* とその同祖遺伝子座を含む BAC コンティグを作製して、この領域にある遺伝子のシンテニー、ホモロジ

一、機能を解析する。

(3) 伸育性制御遺伝子 *Dt1* の候補遺伝子とホモロジーの高い *P2TFL1b* を含む BAC クローンをスクリーニングして、この領域に存在する遺伝子の機能を推定すると共に、*Dt1* 領域との比較を行う。

(4) タンパク質含量 QTL である *PRO1* について、ヘテロ領域が狭い残余ヘテロ接合体を用いて詳細マッピング、BAC コンティグの作製、塩基配列解読を行う。

(5) 花成制御遺伝子 *GmFT* とそのホモログを含む BAC クローンをスクリーニングして、これらの領域にある遺伝子の比較を行う。

(6) 研究期間全体で解析した同祖遺伝子について、それらのホモロジーのレベルや機能分化、また同祖領域についてはマイクロシテニーの程度をとりまとめる。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 6 件)

1. Z. Xia, S. Watanabe, Q. Chen, S. Sato, K. Harada, A novel manual pooling system for preparing three-dimensional pools of a deep coverage soybean bacterial artificial library. *Molecular Ecology Resources* 査読あり、9 (2008), 516-524

2. H. Hisano, S. Sato, S. Isobe, S. Sasamoto, T. Wada, A. Matsuno, T. Fujishiro, M. Yamada, S. Nakayama, Y. Nakamura, S. Watanabe, K. Harada, S. Tabata, Characterization of the soybean genome using EST-derived microsatellite markers. *DNA Research* 査読あり、14(2007), 271-281

3. Y. Tsubokura, M. Hajika, K. Harada, Molecular characterization of a β -conglycinin deficient soybean. *Euphytica* 査読あり、150(2006), 249-255

4. S.A. Ferdous, S. Watanabe, C. Suzuki-Orihara, Y. Tanaka, M. Kamiya, N. Yamanaka, K. Harada, QTL analysis of resistance to soybean cyst nematode race 3 in soybean cultivar Toyomusume. *Breeding Science* 査読あり、56(2006), 155-163

5. Y. Tsubokura, M. Hajika, K. Harada, Molecular markers associated with β -conglycinin deficiency in soybean. *Breeding Science* 査読あり、56 (2006), 113-117

[学会発表] (計 5 件)

1. 原田久也 ダイズリソースの現状とその活用、日本育種学会、2009年3月28日、つくば国際会議場

2. 原田久也 ダイズにおけるゲノム解析基盤の構築とその育種利用、日本育種学会、2008年3月28日、明治大学

3. 坪倉康隆・羽鹿牧太・金森裕之・片寄裕一・原田久也 7S グロブリン欠失性遺伝子 *Scg-1* 座領域の構造解析、種子生理生化学研究会、2008年10月23日、マリンヒルホテル小樽

4. 渡辺啓史・秀島瑠満子・夏正俊・坪倉康隆・佐藤修正・山中直樹・石本政男・田畑哲之・穴井豊昭・原田久也 ダイズの開花期関連遺伝子座 *FT3* のマップベースクローニング 日本育種学会、2008年10月12日、滋賀県立大学

5. Xia, Z, S. Watanabe, K. Harada Fine Mapping toward positional cloning of the *FT1* gene for soybean flowering time. 日本育種学会、2007年9月22日、山形大学

[図書] (計 1 件)

相田光宏等著、原田久也監修、学会出版センター、種子の科学とバイオテクノロジー、2009年、379ページ

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]