

平成21年5月29日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2006～2008

課題番号：18580012

研究課題名（和文） 大豆の早晩性遺伝子 *E4* のポジショナルクローニング研究課題名（英文） Positional cloning of soybean maturity gene *E4*

研究代表者

高橋 良二（TAKAHASHI RYOJI）

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構・作物研究所・大豆生理研究チーム・上席研究員

研究者番号：90360445

研究成果の概要：本研究では、大豆の早晩性を支配する遺伝子（*E4* 遺伝子）をはじめて単離し、*E4* 遺伝子が赤色光受容体（フィトクロームA）をコードしていること、*E4* 遺伝子が劣性のオホーツク海沿岸地域の極早生在来種では、フィトクロームA遺伝子にレトロトランスポゾンが挿入されて機能を失っていること、3種類の東北地方の早生在来種では欠失突然変異が発生しており、フィトクロームAが機能を部分的に失っていることを明らかにした。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	1,600,000	0	1,600,000
2007年度	900,000	270,000	1,170,000
2008年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	540,000	3,940,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：育種学

キーワード：大豆、早晩性遺伝子、フィトクローム、クリプトクローム

1. 研究開始当初の背景

大豆は感光性の高い短日植物で、特定の長さより短い日長条件下でのみ開花する。個々の品種の適応範囲は狭く、栽培地の日長の季節的变化に適応した感光性を有する。低緯度地域の品種を高緯度地域で栽培すると長日条件のために開花が遅れ、成熟前に霜に遭遇して成熟しない。また、高緯度地域の品種を低緯度地域で栽培すると、生育の早い段階で開花し、植物体が小さいまま成熟して収量が低下する。このように、大豆は栽培地域の緯度によって適応品種が異なり、最大限の子実収量を確保するため、それぞれの地域に適応

した品種が栽培されている。

大豆品種の早晩性は、遺伝子 *E1*～*E7* によって制御されており、そのうち *E3* と *E4* は人工光源による長日条件下で同定された。*E1*～*E7* はいずれも低温による種皮の褐変と裂皮の発生を制御するが、*E4* は他の遺伝子とは異なり劣性遺伝子型において着色と裂皮の発生程度を低下させるとともに莢数を増加させるため、大豆品種を高緯度地域に適応させる上で有用である。これらの遺伝子の効果は相加的であり、適切な遺伝子型を組み合わせることにより、高緯度地方で高品質・多収の品種を育成することが可能になる。

2. 研究の目的

本研究課題では、三春大豆（遺伝子型 *e4*）と坂本早生（遺伝子型 *E4*）を交配して育成した *E4* に関する準同質遺伝子系統および早晩性に関する分離集団（ F_{10} 世代）を供試し、AFLPマーカーを用いて詳細な分子連鎖地図を作製する。連鎖情報に基づき、*E4* のポジショナルクローニングを行う。単離した遺伝子の構造と機能を明らかにし、大豆の開花期制御および日長感性の分子生物学的機構を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) *E4* 遺伝子のファインマッピング

三春大豆と坂本早生を交配して育成した *E4* 遺伝子に関する準同質遺伝子系統、および早晩性に関する分離集団を供試し、SSRマーカーおよびAFLPマーカーを用いて多型解析を行った。多型データをMAPMAKER/EXP. ver. 3.0で解析して、詳細な連鎖地図を作成する。

(2) *E4* 遺伝子のクローニング

E4 遺伝子の遺伝子型が異なる品種群より、マップ情報とゲノム情報に基づいてRTPCR法で *E4* 遺伝子をクローニングし、塩基配列を決定する。

(3) クリプトクローム遺伝子のクローニング

弘前大学が明らかにした大豆のクリプトクローム（青色光受容体、CRY）遺伝子の部分塩基配列を利用して品種 Williams よりクリプトクローム遺伝子群を単離し、遺伝子の構造とゲノム上の座乗位置を明らかにする。

4. 研究成果

(1) 4096 組合せのAFLPプライマーを用いて *E4* 遺伝子に関する準同質遺伝子系統間の多型解析を行ったところ、20 マーカーで多型が認められた。

(2) *E4* 遺伝子の分離集団（116 個体）を用いてマッピングを行ったところ、20 マーカーのうち 16 マーカーが連鎖しており、従来最も近傍に見いだされていたマーカー（Satt496 および Satt354）と *E4* 遺伝子との間に 8 個のマーカーが挿入された。

(3) *E4* 遺伝子は、最も近傍のAFLPマーカー（e48m41-8 および e18m38-8）とそ

れぞれ 0.6 cM および 5.4 cM の距離があった（図 1）。

(4) 約 700 個体の分離集団を人工長日圃場で栽培して早晩性（*E4* の遺伝子型）を評価するとともに、各個体からゲノムDNAを抽出した。

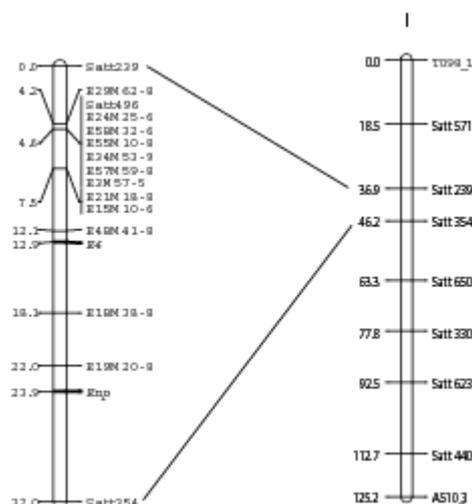


図 1. *E4* 遺伝子の分子連鎖地図

(5) 以上のマップ情報を利用して *E4* 遺伝子を単離し、*E4* 遺伝子が赤色光受容体（フィトクロームA）をコードしていることを明らかにした。そして、*E4* 遺伝子が劣性のオホーツク海沿岸地域の極早生在来種では、フィトクロームA遺伝子にレトロトランスポゾンが挿入されてフィトクロームAが機能を失っていることを見いだした。

(6) 3 種類の東北地方の早生在来種（釜石、机4、早生乙女）の *E4* 遺伝子に欠失突然変異が発生しており、野生型フィトクロームは 1 1 2 3 アミノ酸からなるが、釜石では 8 9 4 アミノ酸、机4では 7 5 9 アミノ酸、早生乙女ではわずか 4 5 6 アミノ酸からなり、機能を部分的に失っていることを明らかにした（図 2）。さらに、それぞれの欠失変異を認識できる dCAPSマーカーを開発し、変異の発生を確認した。

(7) 本研究では、大豆の早晩性遺伝子をはじめ単離するとともに、早晩性遺伝子 *E4* に 4 種類の異なる突然変異アリルが存在することを明らかにした。以上の知見は、大豆の地域適応性の生理研究および品種育成のための重要な基礎資料となる。

phyA2-aa.txt	1	60
Kameishi-aa.txt	1	60
Tsukue4-aa.txt	1	60
Maseotone-aa.txt	1	60
phyA2-aa.txt	61	120
Kameishi-aa.txt	61	120
Tsukue4-aa.txt	61	120
Maseotone-aa.txt	61	120
phyA2-aa.txt	121	180
Kameishi-aa.txt	121	180
Tsukue4-aa.txt	121	180
Maseotone-aa.txt	121	180
phyA2-aa.txt	181	240
Kameishi-aa.txt	181	240
Tsukue4-aa.txt	181	240
Maseotone-aa.txt	181	240
phyA2-aa.txt	241	300
Kameishi-aa.txt	241	300
Tsukue4-aa.txt	241	300
Maseotone-aa.txt	241	300
phyA2-aa.txt	301	360
Kameishi-aa.txt	301	360
Tsukue4-aa.txt	301	360
Maseotone-aa.txt	301	360
phyA2-aa.txt	361	420
Kameishi-aa.txt	361	420
Tsukue4-aa.txt	361	420
Maseotone-aa.txt	361	420
phyA2-aa.txt	421	480
Kameishi-aa.txt	421	480
Tsukue4-aa.txt	421	480
Maseotone-aa.txt	421	480
phyA2-aa.txt	481	540
Kameishi-aa.txt	481	540
Tsukue4-aa.txt	481	540
Maseotone-aa.txt	481	540
phyA2-aa.txt	541	600
Kameishi-aa.txt	541	600
Tsukue4-aa.txt	541	600
Maseotone-aa.txt	541	600
phyA2-aa.txt	601	660
Kameishi-aa.txt	601	660
Tsukue4-aa.txt	601	660
Maseotone-aa.txt	601	660
phyA2-aa.txt	661	720
Kameishi-aa.txt	661	720
Tsukue4-aa.txt	661	720
Maseotone-aa.txt	661	720
phyA2-aa.txt	721	780
Kameishi-aa.txt	721	780
Tsukue4-aa.txt	721	780
Maseotone-aa.txt	721	780
phyA2-aa.txt	781	840
Kameishi-aa.txt	781	840
Tsukue4-aa.txt	781	840
Maseotone-aa.txt	781	840
phyA2-aa.txt	841	900
Kameishi-aa.txt	841	900
Tsukue4-aa.txt	841	900
Maseotone-aa.txt	841	900
phyA2-aa.txt	901	960
Kameishi-aa.txt	901	960
Tsukue4-aa.txt	901	960
Maseotone-aa.txt	901	960
phyA2-aa.txt	961	1020
Kameishi-aa.txt	961	1020
Tsukue4-aa.txt	961	1020
Maseotone-aa.txt	961	1020
phyA2-aa.txt	1021	1080
Kameishi-aa.txt	1021	1080
Tsukue4-aa.txt	1021	1080
Maseotone-aa.txt	1021	1080
phyA2-aa.txt	1081	1123
Kameishi-aa.txt	1081	1123
Tsukue4-aa.txt	1081	1123
Maseotone-aa.txt	1081	1123

図2. E4遺伝子のアミノ酸配列の品種間差異

(8) 品種Williamsより7個のクリプトクローム遺伝子群 (GmCRY1a1, GmCRY1a2, GmCRY1b1, GmCRY

1b2, GmCRY2a1, GmCRY2a2, GmCRY2b) をRT-PCR法によって単離した (図3)。それらの遺伝子は、シロイヌナズナやエンドウマメで確認されたCRY1およびCRY2遺伝子と高い相同性が認められた。

(9) それらの遺伝子は、それぞれ連鎖群B2~Oの異なる位置にマップされた (GmCRY1a : C1連鎖群, GmCRY1b : C2連鎖群, GmCRY1c : B2連鎖群, GmCRY1d : F連鎖群, GmCRT2a : O連鎖群, GmCRY2b : D1b連鎖群, GmCRY2c : I連鎖群) (図3)。

(10) それらの遺伝子と既知の早晩性遺伝子E1~E7との関連は認められず、大豆品種の早晩性の自然変異とクリプトクローム遺伝子の間には関連がないことが明らかになった。

(11) RT-PCR法でクリプトクローム群の遺伝子発現を確認したところ、すべての遺伝子が機能していることが示唆された。クリプトクローム遺伝子と早晩性に関連が見られない原因の一つとして、多数の機能が類似した遺伝子が存在するため、少数の遺伝子の変異が形質に反映されにくいことが考えられた。

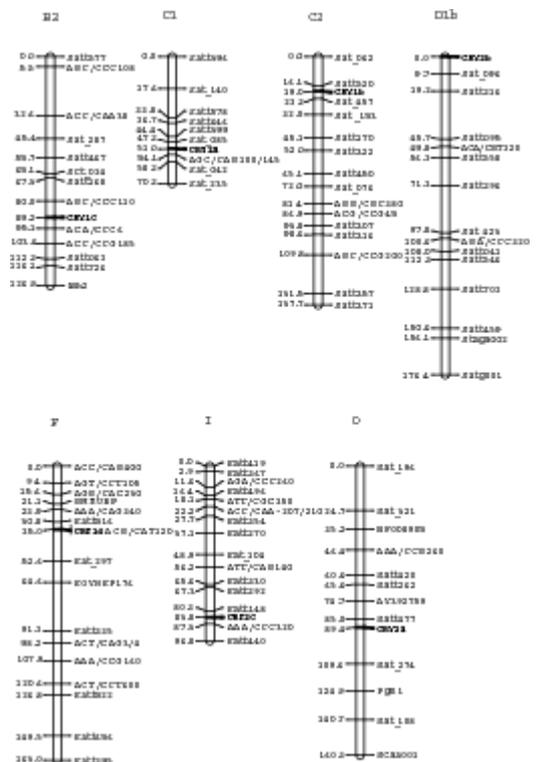


図3. 大豆クリプトクローム遺伝子群のマップ

5. 主な発表論文等

(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2件)

1. Matsumura H, Liu B, Abe J, Takahashi R (2008) AFLP mapping of soybean maturity gene *E4*. Journal of Heredity 99:193-197. (Refereed)

2. Liu B, Kanazawa A, Matsumura H, Harada K, Takahashi R, Abe J (2008) Genetic redundancy in soybean photoresponses associated with duplication of the phytochrome A gene. Genetics 180:995-1007. (Refereed)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高橋 良二(TAKAHASHI RYOJI)

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構・作物研究所・大豆生理研究チーム・
上席研究員

研究者番号：90360445

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者

阿部 純(ABE JUN)

北海道大学・大学院農学研究科・准教授
研究者番号:00192998

原田 久也(HARADA KYUYA)

独立行政法人農業生物資源研究所・ダイズ
ゲノム研究チーム長

研究者番号:70011913