

令和 6 年 6 月 19 日現在

機関番号：82104

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K14835

研究課題名（和文）ダイズにおけるトコフェロール生合成経路を制御する遺伝子の同定

研究課題名（英文）Identification of genetic factors controlling Tocopherol biosynthesis pathway in soybean (*Glycine max* L. Merr.)

研究代表者

朴 チョル (PARK, CHEOLWOO)

国立研究開発法人国際農林水産業研究センター・生物資源・利用領域・任期付研究員

研究者番号：00886913

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、異なるトコフェロールの組成を持つダイズ品種「K099」と「Fendou 16」の交雑に由来するF6世代の組換え自殖系統分離集団を用いて、トコフェロール含有量と含有率に関連する計22個のQTLを6本の染色体上に検出した。そのうち、14番染色体に座するQTLクラスター（qTClu14）の領域にメチル化に關与する遺伝子Glyma.14G132800をqTClu14の候補遺伝子として推定した。また、qTClu14の準同質遺伝子系統を用いてGlyma.14G132800の効果を確認した。Glyma.14G132800は、トコフェロールの生合成経路を制御する新規遺伝子であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で同定したトコフェロール生合成経路を制御する遺伝子は、今まで報告されていない新規遺伝子であり、この遺伝子の活用を通して、ダイズのトコフェロール生合成のメカニズム解明研究や従来のダイズトコフェロール生合成遺伝子の集積による高い γ -Toc含有率を持つ高機能性ダイズ育種素材の創出が期待できる。これを通して、ダイズの低 γ -Toc含有量による食品および産業的活用に対する制限を克服し、様々な分野でダイズの活用性が拡大すると期待される。

研究成果の概要（英文）：In this study, with the aim of increasing the nutritional value of soybean, a RIL population derived from a cross between the soybean varieties ‘K099’ and ‘Fendou 16’ was used to identify QTLs and their candidate genes controlling the tocopherol synthesis pathway. A total of 22 QTLs related to tocopherol content and ratio were identified on six chromosomes. Among these, a novel QTL cluster (qTClu14) located on chromosome 14 showed consistently large effects on tocopherol composition. qTClu14 might regulate the conversion of MPBQ (a precursor of γ -Toc) into DMPBQ (the precursor of γ -Toc) in the tocopherol synthesis process. The effect of the QTL cluster (qTClu14) was validated in a pair of near-isogenic lines. In addition, Glyma.14g132800, which is involved in methylation activity, was identified as the candidate gene responsible for qTClu14. The identified QTLs and their candidate genes might assist in breeding programs aimed at improving seed γ -Toc ratio traits in soybean.

研究分野：植物育種学

キーワード：ダイズ 機能性成分 ビタミンE トコフェロール QTL

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

トコフェロールは4種類の同族体(α、β、γ及びδ)からなり、そのうちα-トコフェロールが最も高いビタミンE活性を示す。ダイズ(*Glycine max* (L.) Merr.)はα-トコフェロールの含有率が10%未満であり、他の油脂作物に比べ(ヒマワリ:90%、セイヨウアブラナ:30%程度)、α-Toc含有量が低く、その栄養性に影響している。ダイズ種子のα-トコフェロール含有率の向上は、ダイズの利用の拡大、市場価値および栄養価値の増加に寄与すると期待されている。異なるトコフェロールの組成を持つ品種ダイズ品種に由来する分離集団と次世代シーケンシング技術を用いて、トコフェロール生合成に関連する遺伝子(座)の同定及び機能検証したものである。

2. 研究の目的

本研究では、予備調査で異なるトコフェロールの組成を持つダイズ品種「K099」と「Fendou 16」を確認し、この二つの品種から由来するF₆世代の組換え自殖系統(RIL)分離集団と次世代シーケンシング技術を用いて、トコフェロール生合成に関連する遺伝子(座)の同定及び機能検証したものであり、ダイズ中のトコフェロール生合成を抑制する遺伝子を同定することにより、ダイズ4種類のトコフェロールの組成比率を改変し、高いα-Toc含有率を持つ高機能性ダイズ育種素材の創出を目指す。また、本研究で同定した生合成の抑制遺伝子と、これまで確認したα-Toc合成の促進遺伝子(α-TMT3)を集積し、二種類の遺伝子の相加効果または相乗効果を利用することで実用的な高機能性ダイズ品種の開発に繋げることを図る。

3. 研究の方法

(1) 「K099 × Fendou 16」由来RIL分離集団を国際農林水産業研究センターの八幡台圃場で栽培(2017, 2020, 2021年)し、高速液体クロマトグラフィ(HPLC)を用いて収穫した種子のトコフェロール含量を分析した。また、RAD-seq解析により高密度遺伝連鎖地図を作成し、トコフェロール含有率に関連するQTLの解析を行った。

(2) 主要QTLの物理的ゲノム領域における候補遺伝子は、*G. max* Wm82.a2.v1のゲノム配列とPhytozome 12の遺伝子注釈を参照して特定された。候補遺伝子の選択には、SoyBase (<https://soybase.org/>)の発現情報(RNA-Seq atlas)も参照された。

(3) 候補遺伝子の機能解析とトコフェロール生合成経路の制御機構の解明のため、候補遺伝子の準同質遺伝子系統(NIL)を作成し、NILs間の候補遺伝子の発現量と種子トコフェロール含有量を解析した。

4. 研究成果

(1) 異なるトコフェロールの組成を持つダイズ品種「K099」と「Fendou 16」に由来するF₆世代の組換え自殖系統(RIL)分離集団では、4種類のトコフェロールのアイソフォーム(α-Toc、β-Toc、γ-Toc、δ-Toc)の含有量と含有率は連続的に分布し、親品種よりも高いまたは低い観察値を確認した。

(2) 「K099」×「Fendou 16」のRIL集団では、トコフェロール含有量と含有率に関連する計22個の有意なQTLが6本の染色体に座定することを確認した。

(3) 検出した 22 個の QTL のうち、 γ -Toc、 δ -Toc、 α -Toc の含有量および含有率に関連する 7 個の QTL が染色体 14 番で QTL クラスター-*qTClu14* を形成することを確認した (図 1)。

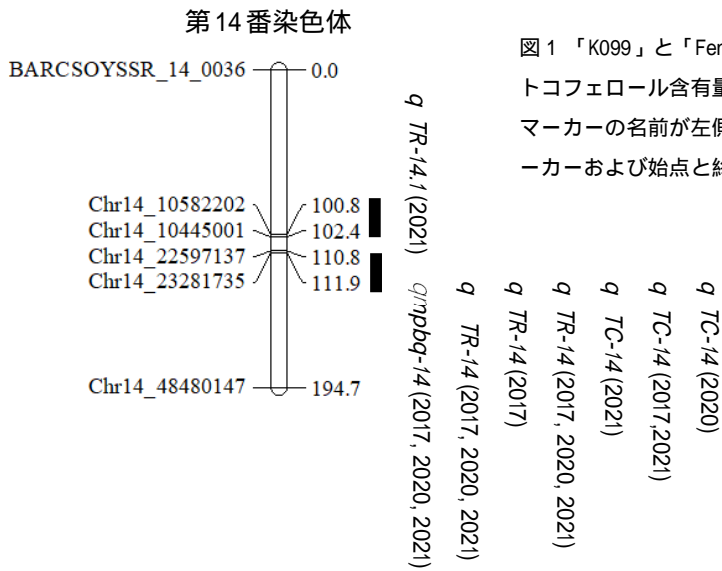


図 1 「K099」と「Fendou 16」のNIL 集団において第 14 番染色体に同定されたトコフェロール含有量と含有率に関連する QTL クラスター-*qTClu14* マーカーの名前が左側、cM 距離及び QTL は右側に示される。QTL と連鎖するマーカーおよび始点と終点のマーカーのみを染色体に表示する。

(4) *qTClu14* のゲノム領域には、メチル化に関与する遺伝子 *Glyma.14g132800* が存在しており、この遺伝子が *qTClu14* の候補遺伝子として推定された。

(5) *qTClu14* の効果を検証するため、*qTClu14* の準同質遺伝子系統(NIL)を作出し、NILs 間に *Glyma.14g132800* の発現量や種子 γ -Toc 含有率の差が確認され、*Glyma.14g132800* がトコフェロールの生合成経路を制御する新規遺伝子であることを確認した (図 2)。

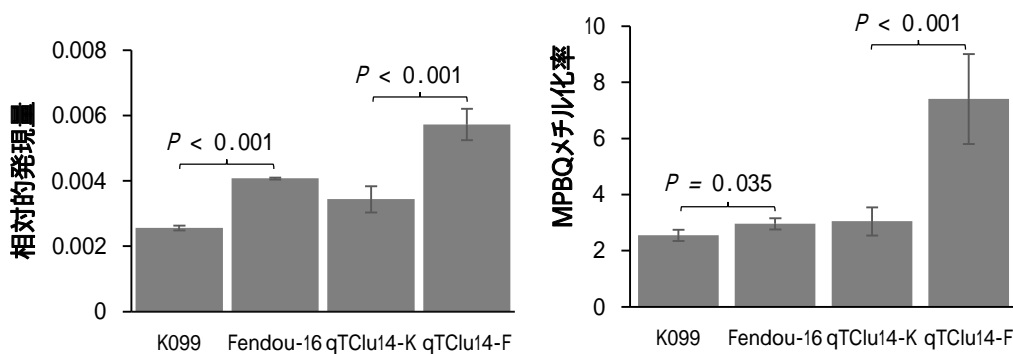


図 2 準同質遺伝子系統 (NIL) における QTL クラスター-*qTClu14* 効果の検証

左 : NILs (qTClu14-K、qTClu14-F) の親品種 (「K099」及び「Fendou 16」) の未成熟種子における QTL クラスター-*qTClu14* の候補遺伝子 *Glyma.14g132800* の DNA 発現量。右 : 完熟種子での MPBQ メチル化率の比較。qTClu14-K : 「K099」遺伝子型; qTClu14-F : 「Fendou 16」遺伝子型; MPBQ メチル化率: γ -Toc 含有率/ α -Toc 含有率。エラーバーは標準偏差。

< 引用文献 >

Park, C、Liu, D、Wang, Q、Xu, D. Identification of quantitative trait loci and candidate genes controlling the tocopherol synthesis pathway in soybean (*Glycine max*)、*Plant Breeding*, 142(4)、2023、489-499.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Park Cheolwoo, Liu Dequan, Wang Qingyu, Xu Donghe	4. 巻 -
2. 論文標題 Identification of quantitative trait loci and candidate genes controlling the tocopherol synthesis pathway in soybean (<scp> <i>Glycine max</i> </scp>)	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Plant Breeding	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/pbr.13104	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Cheolwoo PARK
2. 発表標題 Identification and validation of Candidate genes controlling tocopherol synthesise pathway in soybean
3. 学会等名 World Soybean Research Conference 11 (国際学会) (国際学会)
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

国立研究開発法人 国際農林水産業研究センター(JIRCAS)ホームページ https://www.jircas.go.jp/ja/program/proc/blog/20230529

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------