

平成 30 年 6 月 25 日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K07266

研究課題名(和文) ソルガム再生性の遺伝子同定に関する研究

研究課題名(英文) Genetic analysis of regrowth ability in sorghum.

研究代表者

米丸 淳一 (Yonemaru, Junichi)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・次世代作物開発研究センター・ユニット長

研究者番号：40355227

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：ソルガムの第7染色体上の再生性QTL(qRG7)について、順遺伝学およびRNASeq手法を用いて58kb領域のSobic.007G047300およびSobic.007G047400に候補遺伝子を絞り込んだ。リグニン生合成遺伝子(COMT)のSobic.007G047300に、多型および発現量に有意な差が認められた。一方、LHYのオルソログとされるSobic.007G047400と関連するTOC1(Sobic.004G216700)およびGI(Sobic.003G040900)の概日リズムには大きな差異が認められなかった。ソルガムの再生性には、リグニン生合成遺伝子が関与している可能性が高い。

研究成果の概要(英文)：We have narrowed down qRG7, QTL for the regrowth ability in sorghum located at chromosome 7, to less than 58kb region by using map-based cloning and picked up two candidate genes Sobic.007G047300 and Sobic.007G047400 in this region by the RNASeq method. A difference in nucleotide polymorphism and gene expression level was observed in Sobic.007G047300 controlling the lignin biosynthesis (COMT). On the other hand, although Sobic.007G047400, which is expected as an ortholog of LHY, showed the several nucleotide polymorphisms, there was no significant difference in circadian regulation of gene expressions both TOC1 (Sobic.004G216700) and GI (Sobic.003G040900) related to them. Therefore, it is a high possibility that the loss of function allele of lignin biosynthesis gene, Sobic.007G047300 could reduce the regrowth ability in sorghum.

研究分野：遺伝育種学

キーワード：ソルガム 再生性 RNASeq リグニン生合成遺伝子

### 1. 研究開始当初の背景

ソルガム(*Sorghum bicolor* (L.) Moench)は、アフリカ原産の一年生作物であり世界で5番目に生産量の多い主要穀類である。加えて高い乾物(バイオマス)生産性を示すことから、飼料作物やバイオマス資源作物としても広く利用されている。年間のバイオマス生産を向上させるためには、数回収穫を可能にする刈取り後の再生性が重要な特性である。ソルガムには再生性に幅広い変異があることが知られており、特にソルガムの近縁栽培品種スーダングラス(*Sorghum bicolor* var. *sudanense*)は高い再生能を持つことから育種への利用が期待されている。このように重要な再生性形質であるが、環境との相互作用があり遺伝率が低くほとんど研究が行われておらず、遺伝的メカニズムの解明が必要であった。

そこで我々は、再生性に優れたスーダングラスの市販品種(GreenLeaf、以下、GL)と再生性の不良なソルガム系統(那系MS-3B、以下MS3B)(写真1)の交配後代から得られた組換え自殖系統を用いて、複数年における再生性に関するQTL解析を行い、複数のQTLの中で最も効果の高いQTL(qRG7)を2Mb以内の領域に絞り込むことに成功した。



Greenleaf

那系MS3B

写真1 スーダングラスとソルガムの再生性

### 2. 研究の目的

本研究では、ソルガムの再生性QTL(qRG7)の座乗領域をさらに狭めると同時に、次世代シーケンサーで得られたゲノム配列情報および転写産物情報によって、再生性形質を支配する候補遺伝子の同定とその遺伝子の収量への効果を明らかにする目的で研究を行う。

### 3. 研究の方法

再生性に関与する遺伝子を特定するために、qRG7の候補領域470kbについて、MS3Bを戻し交雑親とするBC<sub>2</sub>F<sub>5</sub>系統から組み換え自殖系統を11系統選抜し、再生草(2番草)収量の調査を行い遺伝子型との関係から候

補領域の絞り込みを行った(図1)。また、候補領域内における原因遺伝子の特定を行うために、RNASeq法を用いて当該領域における遺伝子発現について調査した。材料として、MS3B、GLおよび候補遺伝子領域がGLアレルを示すBC<sub>2</sub>F<sub>5</sub>系統の幼苗を用いて、刈取り再生直後、刈取り半日後、刈取り1日後における、3個体バルクの側芽サンプルを用いた(図2)。これらのサンプルからRNAを抽出し、Illumina HiSeqを用いた全Transcriptome解析によって得られた配列情報について、HISAT2でソルガムのリファレンスゲノムにmappingを行い、CufflinksおよびCuffdiffを用いて候補領域内の遺伝子における多型および発現量解析を行った(図3)。

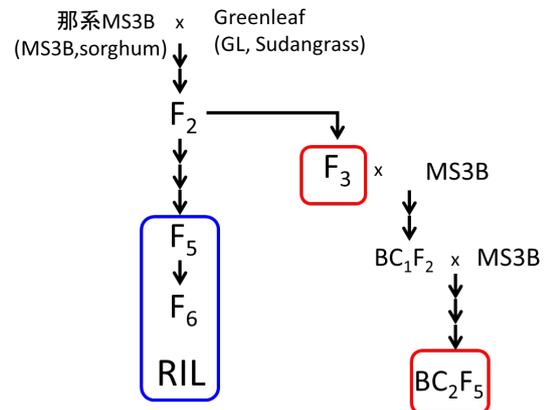


図1. 本研究で用いた解析材料



元々の生長点部分を除去して  
周辺部をサンプリング

図2. RNASeq解析のためのサンプリング

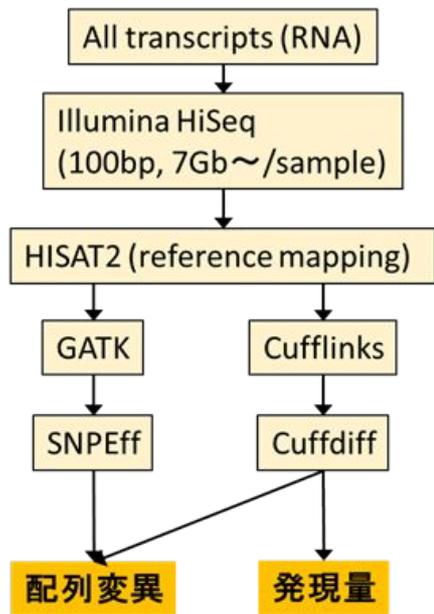


図3. RNASeq 手法のフロー

#### 4. 研究成果

組み換え自殖系統を用いて各マーカーの遺伝子型と再生草収量との関連性を調査した結果、候補領域を 58kb 内に絞り込むことが可能となった。当該領域に座上する 7 遺伝子座のうち、RNASeq 解析によって発現および多型が認められたのは 2 遺伝子座 ( Sobic.007G047300 および Sobic.007G047400 ) であった。そのうち、Sobic.007G047300 であるリグニン合成遺伝子 (COMT) は、多型とともに発現量にも有意な差が認められた ( 図 4 ) 。

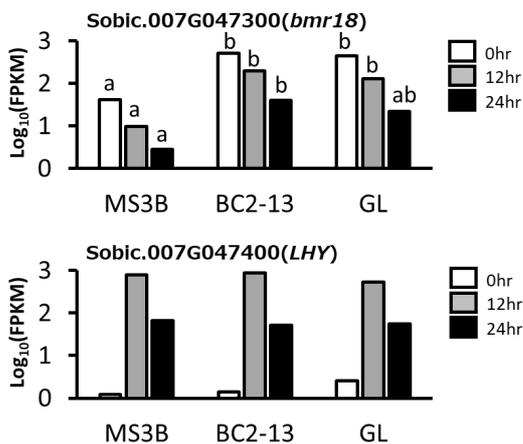


図4. 候補領域における遺伝子発現量

MS3B は COMT に変異を生じた褐色中肋変異系統 bmr18 に由来した品種であり、bmr18 は COMT の第一エキソンに終止コドン (G->A) が挿入された非機能型アリル bmr18 を保有することが明らかとなっている ( 図 5 ) 。

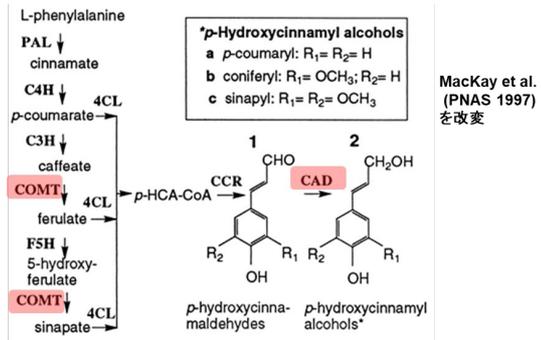


図5. リグニン生合成経路

一方、MS3B において複数の配列多型が確認された Sobic.007G047400 は、概日時計に關する LHY のオルソログとされているが ( 図 6 )、關連が予想される TOC1 ( Sobic.004G216700 ) および GI ( Sobic.003G040900 ) の発現量による概日リズムに大きな差異が認められなかったことから、配列多型は概日時計においては機能的な影響を与えていないと考えられた ( 図 7 ) 。

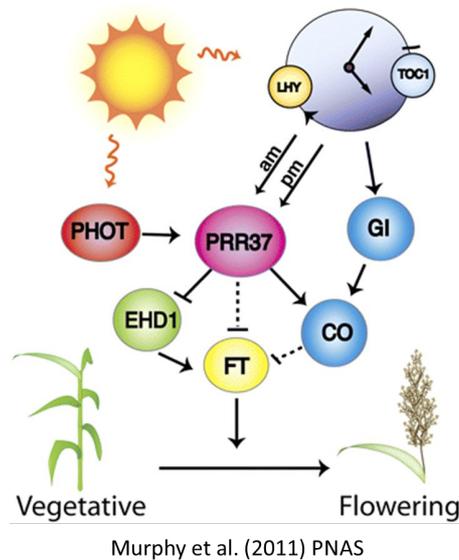


図6. ソルガムの開花制御に關連する遺伝子ネットワーク

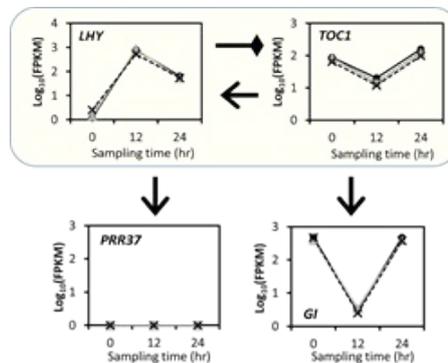


図7. LHY と概日リズムに關連する遺伝子の発現パターン

以上のことから、ソルガムの再生性は、COMT  
における非機能型の bmr18 アリルによって低  
下する可能性が高いと考えられた。

#### 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)

[学会発表](計 1件)

米丸淳一, 春日重光, 川東広幸 (2017)「ソ  
ルガムの再生性がリグニン生合成遺伝子  
COMTの非機能型アリル bmr18 によって低下す  
る可能性」日本育種学会第 132 回講演会

#### 6. 研究組織

##### (1)研究代表者

米丸 淳一 (YONEMARU JUNICHI)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研  
究機構・育種法開発ユニット・ユニット長

研究者番号：40355227

##### (2)研究分担者

春日 重光 (KASUGA SHIGEMITSU)

信州大学・学術研究院農学系・教授

研究者番号：50345758

川東 広幸 (KAWAHIGASHI HIROYUKI)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研  
究機構・次世代作物開発研究センター・上級  
研究員

研究者番号：80373249