

令和 3 年 6 月 25 日現在

機関番号：82617

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K05584

研究課題名（和文）ダイズの登熟期間に関わる開花関連遺伝子の機能解析とその活用

研究課題名（英文）Function analysis and application of flowering-related genes involved in soybean ripening period

研究代表者

小木曾 映里 (Ogiso-Tanaka, Eri)

独立行政法人国立科学博物館・分子生物多様性研究資料センター・特定非常勤研究員

研究者番号：00646929

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：ダイズの成熟期間に影響を持つと考えられるFTB1遺伝子の機能型・機能欠損型を同じ遺伝的背景を持つ同質遺伝子系統を用いて、FTB1遺伝子が開花から成熟に至るまでのどのステージに影響を及ぼしているかを明らかにした。ダイズミニコアコレクションを用いて複数のアリルを明らかにした。材料育成に当たって、ジェノタイピング手法の開発にも取り組んだ。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ダイズの成熟期間は収穫期や生産量だけでなく、種子の品質にも関わる重要な形質である。今回の解析により、FTB1は当初予想されていた種子の成熟期間を制御するのではなく、開花後の全てのステージを遅らせる機能があることが明らかとなった。今までに開花までの形質には関与せず、開花以降のステージのみを遅らせる機能を持つ遺伝子は知られておらず、機能的に興味深い。また開花期には影響しないため、収穫期の短縮に向けた育種ターゲットになり得る。

研究成果の概要（英文）：Using near-isogenic lines with the same genetic background of functional and unfunctional FTB1 gene, which is thought to have an effect on the ripening period of soybean, I determined which stage of the developmental process from flowering to maturity the FTB1 gene affects. Some alleles were identified using the soybean mini-core collection. In developing the genetic materials, I also worked on the development of genotyping methods.

研究分野：育種学

キーワード：ダイズ 開花期 成熟期

1. 研究開始当初の背景

ダイズの開花関連 QTL として単離された *FTBI* および *FTH* は、QTL のゲノム上の位置から Pseudo response regulator (PRR) が原因遺伝子では無いかと予想され、実際に遺伝子の配列解析によって、遺伝解析に用いた片親にアミノ酸置換による機能変異もしくは欠失が見られた。PRR 遺伝子は、アラビドプシスやイネにおいて概日時計に関わる遺伝子であることが示されている。概日時計は生物のあらゆる生理反応に関わることが示されており、植物においては光合成活性が概日時計の制御を受けることが明らかとなっている (Dodd ら 2014) だけでなく、葉脈が周辺組織の概日リズムに影響を与えることが明らかとなっており、数理モデルからも植物体内の物質の拡散が細胞時計の位相を遅らせる効果を持つことが示され、物質転流が葉内における位相パターンに影響することが示されている (Fukuda ら 2007)。さらに、ショ糖により概日時計の位相が変化することが示されており (Haydon ら 2013)、葉内の物質と概日時計には相互作用があると考えられる。*FTBI* および *FTH* の PRR 候補遺伝子はパラログ遺伝子であるが、交配によって遺伝的背景をある程度揃えた準同質遺伝子系統を作成したところ、*FTH* は開花を遅延する効果があったが、*FTBI* では開花への影響がほとんど見られず成熟期の長さに影響が見られた。関連アラビドプシスにおいて、PRR ファミリーの相互作用因子が精力的に単離されつつあるが (Nakamichi ら)、アラビドプシスの性質上、成熟に関する解析はなされていない。

ダイズの開花から登熟までの期間は、大豆の品質を決定する重要な期間であるが、登熟期間に着目した遺伝学的な研究はほとんど行われていない。登熟後期は子実中に主にタンパクを蓄積すると言われており、日本品種は登熟期間が長く、アメリカ品種は登熟期間が短い傾向にあり、アメリカ品種は子実中のタンパク含量が低く脂質含量が高い (松尾ら 2017)。予備的な結果から、日本品種では *FTBI* が機能的であったのに対し、アメリカ品種では *FTBI* 機能欠失型が主要アリルであった。登熟期間はソース (葉) から子実 (シンク) への物質転流のスピードに影響を受けることから (藤田ら 2008)、*FTBI* が物質転流にどのように影響を及ぼすのか興味深い。また概日時計は光合成活性にも影響があることが知られており、子実肥大期の光合成活性と *FTBI* との関係についても、NIL および変異体を使用した解析を行うことで明らかにすることが可能であると考えた。

2. 研究の目的

- (1) 成熟期間を制御する *FTBI* と開花まで日数のみを制御する *FTHI* はどちらも Pseudo response regulator をコードするパラログな遺伝子であると予想されることから、変異体を用いて原因遺伝子の特定をする。
- (2) 登熟期間はソース器官からシンク器官への転流の期間であり、その長さの違いは物質転流のスピードの違いと捉えることができる。登熟期間を制御する *FTBI* の NIL および変異体を用いて、登熟期間の子実および葉の成分分析および RNAseq による網羅的発現解析を行うことで、*FTBI* の登熟期における遺伝的・生理的役割を明らかにする。登熟期間の経時的な子実の RNAseq 解析については報告があるが (Jones ら 2013)、登熟期間を制御する遺伝子の NIL および変異体を使用した解析事例は報告がないため、本解析により登熟期間・子実成分・遺伝子発現についての新たな知見が得られると考えた。

3. 研究の方法

- (1) 機能証明

- (2) ダイズ品種エンレイの変異集団から *FTB1* に機能欠損変異がある系統をスクリーニングし、遺伝的背景を綺麗にするために戻し交配を行い、開花および成熟期を調査することで遺伝子の機能証明を行う。エンレイは *FTH* の機能欠損型(*ftb*)であるため変異体による証明ができないため、Peking(*FTH* 型)を用いた準同質遺伝子系統(NIL)にさらに戻し交配を行い、遺伝的背景を次世代シーケンサーを用いて詳細に調査することで機能証明の材料とする。
- (3) *FTB1* および *FTH* の概日時計および光周性花成経路における位置づけ
NIL および変異体を用いて、qRT-PCR による既知開花関連遺伝子の発現解析を行うことで、*FTB1* および *FTH* がダイズの概日時計および光周性花成経路のどこに位置するか推定し、両遺伝子のターゲットの違いを明らかにする。アラビドプシスにおいて、PRR ファミリーはそれぞれ異なる遺伝子をターゲットとして発現を制御することが知られており、ダイズにおいても *FTB1* および *FTH* の制御するターゲット遺伝子群は異なることが予想される。両遺伝子が、開花および時計制御機構のどこに位置づけ、どの既知遺伝子の発現を制御するのかをまず明らかにする。
- (4) 農業形質についての詳細な調査
NIL および変異体を用いることにより、開花期、成熟期、草丈、節数、粒重、莢数、種子成分を測定し、*FTB1* および *FTH* の各形質における効果を調査する。また、*FTB1* については開花期と成熟期のみで登熟期間としているが、ダイズの登熟期間を開花から着莢まで期間と着莢から成熟までにステージを分けることで、*FTB1* が純粋な登熟期間(着莢から成熟)に効果があるのか確認する。種子成分については、登熟期間中に経時的にサンプリングして計測する。登熟期間の環境を揃えるために、開花期が全系統で揃うように播種することで、全系統のサンプリングを同時期に行い、環境の影響を排除する。以上の調査により、*FTB1* および *FTH* の農業形質への効果を明らかにし、収量性の向上にどのように活用できるのか作物学的な考察をする。

3. 研究成果

(1) 機能証明

FTB1 の変異体は生育不良が見られたためエンレイとの戻し交配を行ったが、生育不良は改善したものの、良好な状態には至らなかった。しかし、同じ個体由来の *FTB1* と *ftb1* 型の系統を比較したところ、開花への影響はほとんど見られず、明確な成熟期の遅延が見られたことから、*FTB1* は成熟期間に関連する遺伝子であることが証明された。準同質遺伝子系統を用いた実験でも、同様の結果が得られた。*FTH* は開花を遅延するが成熟期間には影響が見られなかった。

発現解析のためにチャンバーで栽培したところ、*FTB1* の成熟期間への影響が見られなかった。温室で複数回栽培したところ、夏の光の強い時期にだけ、*FTB1* の成熟期間への影響が顕在化したことから、*FTB1* の成熟期間への影響には光の強さが関わっていることが予想された。

2020 年に中国から、*FTB1* および *FTH* と同じ原因遺伝子であると考えられる *Tof11* と *Tof12* が単離され論文が発表された(Lue et al. 2020, Nature Genetics)。この論文では、両遺伝子は開花への影響しか報告されておらず、本研究とは相入れない結果であった。遺伝的背景が異なることによって *FTB1*(*Tof11*)の機能が変わるという仮説しか考えられないが、そのような材料が無い場合、検証するためには材料育成を行う必要がある。

(2) *FTB1* および *FTH* の概日時計および光周性花成経路における位置づけ

qRT-PCR による既知開花関連遺伝子の発現解析を行ったところ、開花に影響を及ぼす *FTH* の NIL では E1 および *FT* 関連遺伝子に差が見られ、Lue らの結果と一致したが、*FTB1* の NIL では差が見られなかった。形質からも予想されたことではあるが、Lue らの結果とは大きく異なっており、今後この違いを検証していく必要がある。

(3) 農業形質についての詳細な調査

NIL および変異体を用いて、開花後の形質を詳細に調査した。当初、*FTB1* の効果は成熟のスピードを制御すると考えていたが、実際には、開花以降の莢の伸長速度からすでに差が見られ、成熟の最終段階に至るまで、*FTB1* は開花以降の全てのステージの速度に影響を及ぼすことが明らかになった。また子実肥大期の光合成活性についても、機能型の方が光合成活性は高いが、単に成熟スピードの違いによって、葉の老化が遅延している（子実の充実も遅延している）だけであり、直接光合成活性に影響を及ぼしているとか考えにくかった。

FTB1 は、開花から成熟に至る全てのスピードを遅延するため、最終的に収穫期が遅くなることから、育種のターゲット形質として、この形質が農業上有益な効果をもたらすかどうかは、今後作物学的な解析が必要である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Ogiso-Tanaka Eri, Shimizu Takehiko, Hajika Makita, Kaga Akito, Ishimoto Masao	4. 巻 26
2. 論文標題 Highly multiplexed AmpliSeq technology identifies novel variation of flowering time-related genes in soybean (<i>Glycine max</i>)	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 DNA Research	6. 最初と最後の頁 243 ~ 260
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/dnares/dsz005	査読の有無 有
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 -

1. 著者名 Ogiso-Tanaka Eri, Yabe Shiori, Tanaka Tsuyoshi	4. 巻 70
2. 論文標題 lonBreeders: bioinformatics plugins toward genomics-assisted breeding	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Breeding Science	6. 最初と最後の頁 396 ~ 401
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1270/jsbbs.19141	査読の有無 有
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 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計1件

1. 著者名 小木曾 映里	4. 発行年 2021年
2. 出版社 北隆館	5. 総ページ数 98
3. 書名 アグリバイオ Vol.5 遺伝・DNA・ゲノム研究が推し進める育種1 「アンプリコンシーケンス法を活用したゲノム育種技術」	

〔産業財産権〕

〔その他〕

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
研究分担者	加賀 秋人 (Kaga Akito) (30391551)	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 (82111)	

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
---------	---------