

機関番号：33101

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2007～2010

課題番号：19780007

研究課題名（和文） 自殖性普通ソバを利用したゲノム育種研究基盤整備

研究課題名（英文） Development of a buckwheat breeding program based on genome information

研究代表者

相井 城太郎 (AII JOTARO)

新潟薬科大学・応用生命科学部・助教

研究者番号：10391591

研究成果の概要（和文）：

本研究では、ソバにおいてゲノム情報を利用した高付加価値品種育種の短期育成体系の確立を目指した。まず実験モデル系統として極矮性自殖性フツウソバ（k-chibi）を単離し、その変異原因をブラシノステロイドホルモン生合成系の触媒酵素あることを明らかにした。またk-chibiと適度に多型を示す自殖性系統（No. 420）間に由来するF2集団よりRILs（組換え自殖系統）を育成した。さらにF2 92個体を供試し、k-chibiおよびNo. 420ともに8連鎖群に収束されるDNA連鎖地図を作成した。

研究成果の概要（英文）：

In this study, we report on the development of an extreme dwarf plant, K-chibi, and recommend it as a model buckwheat plant. From the results of the study, it is suggested that K-chibi should be a BL-deficient mutant. We have also developed recombinant inbred lines (RILs) from cross between K-chibi and No. 420, and used to develop a DNA linkage map of buckwheat. The map covered 923 cM of the buckwheat genome with an average distance of 9.4 cM between adjacent markers.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2008年度	800,000	240,000	1,040,000
2009年度	600,000	180,000	780,000
2010年度	500,000	15,000	650,000
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

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

1. 研究開始当初の背景

これまでの作物育種目標は、増収量、耐病性および耐寒性など生物的、物理的ストレスの克服であった。近年では、現代ストレスに起因する生活習慣病などを予防するために、植物が保持する機能性成分が注目されるようになり、有用な機能性成分を高めた作物育種も重要な課題となっている。これらの育種形質を

支配する遺伝子を迅速に同定し応用することで、イネを中心に積極的に展開されているゲノム情報を利用した高付加価値品種の短期育成が可能となっている。本来他殖性であるフツウソバにおいては、自殖性を導入した有用な農業形質を保持する品種育成が期待されている。しかしながらフツウソバにおいては、集積された遺伝資源を有効に利用するた

めのゲノムあるいは育種研究基盤が確立されていなかった。ゲノムとバイオ資源を効率的に活用するためには、有用形質の生理的あるいは遺伝学的評価をすることが重要である。そのため、複雑な遺伝形質を解析するための標準実験モデル系統と遺伝解析集団の開発が望まれている。

2. 研究の目的

本研究では、ソバにおけるゲノム情報を利用した付加価値の高い品種の短期育成体系の確立を目指す。そのために、

- (1) 標準実験モデル系統の開発
- (2) ツウソバにおける DNA マーカーの整備

を目的に研究を実施した。

3. 研究の方法

本研究では、

- (1) 標準実験モデル系統として選抜した極矮性自殖性ツウソバの原因遺伝子の特定を行なった。そのために、

- ① 植物ホルモンに対する生理応答試験
- ② シロイヌナズナにおけるブラシノステロイド生合成遺伝子群を用いた RFLP 解析
- ③ 極矮化原因遺伝子の単離

を行なった。また、

- (2) 標準遺伝解析集団の育成と DNA 連鎖地図作成を行なった。そのために、

- ① 極矮性自殖性ツウソバを用いた遺伝解析集団の作出
- ② DNA マーカーによる連鎖地図作成を実施した。

4. 研究成果

(1) 標準実験モデル系統の生理的特性

本来他殖性であるツウソバに自殖性形質を導入することで、多様な形質を有する自殖系統を保持している。その中より、非常に強い矮性を示す個体を選抜した。10 世代に亘り自殖を繰り返すことで形質を固定し、極矮性系統 K-chibi を育成すると同時にその NIL を作出した。初開花日から一週間経過した植物体の全長を比較したところ、NIL が平均 49.7cm、K-chibi が平均 7.1cm であり、さらに各節間長において有意な差が認められた。この形態的特徴から、矮化の原因が植物ホルモンの生合成あるいは受容に関わる変異であることが推測されたため、ブラシノステロイドとジベレリンに対する応答性を調査した。その結果、K-chibi はブラシノステロイドの

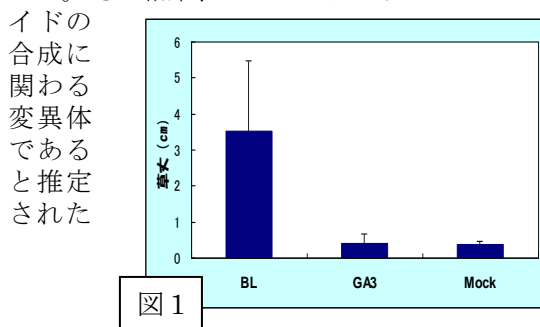


図 1

(図 1)。さらに節間細胞を観察したところ、極矮性自殖性ツウソバは、野生型と比較して細胞の大きさならびに数が減少していることが明らかとなった。

(2) 極矮化原因遺伝子の単離

極矮化の原因遺伝子を明らかにするため、ブラシノステロイド生合成に関わる遺伝子の多くが明らかとされているシロイヌナズナの cDNA をプローブとして K-chibi と NIL 間で RFLP 解析を行なった。その結果、デオキシカステロンからカステロン、カステロンからブラシノライドを触媒する *BRox2* (*CYP85A*) においてのみ RFLP 多型を確認することができた。K-chibi と NIL より当該遺伝子を単離したところ、k-chibi の第 1 エキソンに 363bp の挿入が認められ、それによるフレームシフト変異が生じていることが明らかとなった。CYP85A は活性化型のブラシノライド生産に必要な酵素であることから、k-chibi における極矮化は、活性化型ブラシノステロイド生産に支障を及ぼすことにより、細胞サイズならびに細胞数が減少することに起因すると考えられる。

(3) 標準遺伝解析集団の育成

k-chibi を母本とした遺伝解析集団を作出することを目的に SSR マーカーによる多型解析を実施し、適度に多型を示す自殖性系統 (No. 420) 間に由来する F2 集団より RILs を育成した。現在までに、自殖 8 世代目が 120 系統育成されている。F2 92 個体を供試し、DNA 連鎖地図を作製した。構築された連鎖地図は、極矮性系統および No. 420 とともに 8 連鎖群に収束されており、それぞれ 106 と 98 の AFLP マーカーから成る。8 連鎖群の全長は、i105 由来が 923cM、No. 420 由来が 1059.8cM であり、それぞれのマーカー間の平均距離は 9.4cM と 11.4cM であった。さらに、自殖性ならびに矮性等の重要農業形質に関わる遺伝子のマッピングも行なった。

表 構築された普通ソバの DNA マーカー連鎖地図情報

連鎖群	1 ^o		2 ^o		3 ^o		4 ^o	
	No.420 ^a	i105 ^b	No.420 ^a	i105 ^b	No.420 ^a	i105 ^b	No.420 ^a	i105 ^b
地図距離 (cM) ^c	120.2 ^d	168.7 ^d	176.9 ^d	85.3 ^d	71.0 ^d	126.2 ^d	168.8 ^d	58.6 ^d
AFLP マーカー ^e	14 ^d	22 ^d	13 ^d	10 ^d	8 ^d	16 ^d	21 ^d	5 ^d
マーカー間 ^f	8.6 ^d	7.7 ^d	13.6 ^d	8.5 ^d	8.9 ^d	7.9 ^d	8.0 ^d	11.7 ^d
平均距離 (cM) ^e								

5 ^o		6 ^o		7 ^o		8 ^o		Total ^o	
No.420 ^a	i105 ^b	No.420 ^a	i105 ^b	No.420 ^a	i105 ^b	No.420 ^a	i105 ^b	No.420 ^a	i105 ^b
124.0 ^d	124.8 ^d	162.8 ^d	115.2 ^d	89.6 ^d	62.7 ^d	146.5 ^d	71.7 ^d	1059.8 ^d	813.2 ^d
14 ^d	21 ^d	13 ^d	10 ^d	6 ^d	9 ^d	9 ^d	13 ^d	98 ^d	106 ^d
8.9 ^d	5.9 ^d	12.5 ^d	11.5 ^d	14.9 ^d	7.0 ^d	16.3 ^d	5.5 ^d	11.5 ^d	8.2 ^d

No.420 : No.420 の連鎖群^d

i105 : k-chibi の連鎖群^d

本研究課題においては、実験モデル系統である k-chibi の原因遺伝子の特定と解析については、責任遺伝子同定と機能推定ができたことから当初目標を達成することができた。また、標準遺伝解析集団の育成と DNA 連鎖地図作成については、モデル系統を片親とする RILs の 8 世代 120 系統を作出しているため、標準遺伝解析集団の育成は当初目標を現時点で達成できている。今後の展望として、食と健康の関わりに改めて高い関心が寄せられているため、疾患予防等に関わる成分を含有する高機能性植物育成に積極的に活用する。具体的には、モチ性、デンプン含量、草型、自家不和合性等の重要農業形質に関わる遺伝子のマッピングを進め、DNA マーカー利用による複数の重要形質を併せ持つ嗜好性、機能性に富んだブランドとなるソバ品種育成の基盤整備をさらに進展させる。また、本研究から得られる情報を、新規な機能性物質の探索や高付加価値化に向けた研究へとフィードバックをする。

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)

Aii J, M Nagano, K Yamamoto, Y Wang, C Campbell A proposed model dwarf buckwheat plant K-chibi. *Advances in buckwheat research* 221-225 (2007)

Toshikazu Morishita, Yuji Musaka, Tasuro Suzuki, Akemi Shimizu, Hiroyasu Yamaguchi, Konosuke Degi, Jotaro Aii, Yoshihiro Hase, Naoya Shikazono, Atsushi Tanaka, Yutaka Miyazawa, Yoriko Hayashi and Tomoko Abe Characteristics and inheritance of the semidwarf mutants of Tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum* Gaertn) induced by gamma ray and ion beam irradiation *Breeding Research* 12: 39-43 (2010)

[学会発表] (計 5 件)

酒井真実子、船木武人、長野美緒、クレイトン キャンベル、相井城太郎 自殖性普通ソバ系統に見出された極矮性系統の解析 日本育種学会 平成 20 年 3 月

森下敏和、清水明美、山口博康、出花幸之介、六笠裕治、相井城太郎、長谷純宏、鹿園直哉、田中淳、宮沢豊、齋藤宏之、林依子、竜頭啓充、阿部知子 ガンマ線およびイオンビーム照射によって得られたダツタンソバ半矮性変異体の特性 日本育種学会平成 20 年 10 月

相井城太郎、小山絵美、櫻井美仁、平岡昇、

長野美緒、Campbell Clayton 普通ソバにおける異形花型自家不和合性の解析I自家不和合性突然変異体の単離と遺伝学的解析 日本育種学会 平成21年9月

船木武人、佐藤真吾、小島史代、平岡昇、長野美緒、Campbell Clayton、相井城太郎 普通ソバにおける異形花型自家不和合性の解析II. Sハプロタイプ特異的遺伝子の探索 日本育種学会 平成21年9月

森下敏和、六笠裕治、鈴木達郎、清水明美、山口博康、出花幸之介、相井城太郎、長谷純宏、鹿園直哉、田中淳、宮沢豊、林依子、阿部知子 ガンマ線およびイオンビーム照射によって得られたダツタンソバ半矮性系統の遺伝および農業特性 日本育種学会 平成22年3月

6. 研究組織

(1)研究代表者 相井 城太郎 (AII JOTARO)
新潟薬科大学 応用生命科学部 助教

研究者番号：10391591

(2)研究分担者
()

研究者番号：

(3)連携研究者
()

研究者番号：