

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 14 日現在

機関番号：82112

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22780010

研究課題名（和文）

準同質遺伝子系統を用いたダイズ開花期関連遺伝子の発現ネットワークの構築

研究課題名（英文）

Construction of soybean flowering time genes network using near-isogenic lines

研究代表者

渡邊 啓史 (WATANABE SATOSHI)

独立行政法人農業生物資源研究所・ダイズゲノム育種研究ユニット・任期付研究員

研究者番号：40425541

研究成果の概要（和文）：

ダイズの開花期は様々な遺伝子による制御を受ける。本研究では、これまでに原因遺伝子が明らかとなっている開花期関連遺伝子のうち 6 遺伝子座を対象に、共通の遺伝的な背景を持つ準同質遺伝子系統を育成し、その遺伝子座間の関係を遺伝子の発現レベルについて解析を行った。その結果、長日条件におけるダイズフロリゲン遺伝子の抑制に機能する *E1* 遺伝子の発現制御には、複数の独立した経路が存在することが示唆された。

研究成果の概要（英文）

Many genes regulating soybean flowering time are identified. To analyze the relationship among these soybean flowering genes, we developed six near-isogenic lines harboring contrast genotype for Japanese soybean cultivar “Enrei”. The amounts of *E1* transcript up-regulated under long-day condition were highly correlated with the transcripts level of soybean florigen genes and their flowering phenotypes. These results indicated that the regulation of *E1* gene expressions was probably controlled independently by several soybean flowering genes.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2011 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学・育種学

キーワード：ダイズ 開花期 遺伝子発現 量的形質 開花期関連遺伝子

1. 研究開始当初の背景

ダイズは良質なタンパク質源として、また油糧作物の一つとして、幅広い緯度に渡って栽培が行われている。この広範な栽培地域を持つダイズの特徴は、低緯度地域から高緯度

地域の日長下において、適した開花特性を持つためである。ダイズの開花期は複数の遺伝子座による支配を受けることが知られており、これらの開花遺伝子の組み合わせが地域適応性に関与している。分子生物学的手法に

基づいた解析により、これまでにダイズにおいて開花期に関与する 4 遺伝子座 (E1、E2、E3、E4 遺伝子座) について、原因遺伝子が同定されている。ダイズは古倍数性の植物を起源とするために、高い相同性を持つ遺伝子が存在する。その一例として、開花関連遺伝子のうち E3 と E4 遺伝子座は光受容体であるフィトクロム A によって支配されている。これらのフィトクロム A 遺伝子に変異が生じる事で、ダイズでは早生化の表現型を示すが、これらのフィトクロム A 遺伝子は異なる波長の光を認識する。このような相同遺伝子の機能分化や他の開花期関連遺伝子との関連についての詳細は明らかとなっていない。また、ダイズの開花には花成の誘導に必須と考えられるダイズフロリゲン遺伝子が同定されているが、この遺伝子に対する、他の開花期関連遺伝子の関係性は十分に明らかになっておらず、ダイズの開花特性を理解するための研究が十分になされているとは言えない。生物はその生涯を通じて、外部環境を認識して様々な応答を示す。植物が持つ生物時計は外部の環境を認識し、適切な時期に開花を行う上で重要な働きを示す。このような一日を通じた生物時計の働きに関して、概日リズムを示す運動に着目して古くから研究がなされているが、ダイズでは葉の就眠運動の周期やパターンに幅広い変異が認められ、個々の地域の栽培適地との関連が指摘されてはいるものの、分子的なメカニズムは明らかとなっていない。

2. 研究の目的

これまでにダイズにおいて開花期に関与する 4 遺伝子座に加えて、機能が明らかでない新規の QTL を含めた複数の準同質遺伝子系統を用いて、開花期関連遺伝子の日周変動、日長条件や光質等に対する応答性を発現レベルで比較することで、それぞれの QTL 間の

遺伝子発現レベルにおける関連性を解析し、開花期関連遺伝子間のネットワークおよび QTL 間に存在するエピスタシスそのため、これらの遺伝子座間の関係性を明らかにすることで、ダイズの花成を制御する仕組みに対する知見を得ることを研究の目的とした。

3. 研究の方法

(1) 異なる地点での開花期 QTL の評価による環境応答性の解析

自然日長条件下における開花期関連遺伝子座の効果がどのように変化するかを捉えるために、E1、E2、E4 遺伝子が分離する F₂ 集団 200 個体をつくば市と札幌市の 2 地点でそれぞれで育成し、DNA マーカーとその表現型から、各開花期関連遺伝子の効果と相互作用について解析する。

(2) ダイズ開花期関連遺伝子の同定

2008 年に公開されたダイズのゲノム情報を基に、これまで解析がなされてきたアラビドプシスやイネの開花関連遺伝子を中心に、相同性の高い遺伝子をダイズゲノムから抽出する。

(3) ダイズの持つ生物時計の評価

ダイズの葉は 1 日を通してその葉の位置を変化させる概日リズムを示す。このような運動はダイズの持つ生物時計による制御を受けると予想され、それぞれの準同質遺伝子系統が示す概日リズムを解析することで、開花期関連遺伝子と生物時計の関係性を明らかにする。

(4) 準同質遺伝子系統を用いた開花期関連遺伝子の解析

国産ダイズ品種であるエンレイに対し、中国のダイズ品種 Peking を連続戻し交配によって得られた染色体部分置換系統集団から、開花期関連遺伝子 6 遺伝子座を対象に、各々の遺伝子座について、エンレイ型から Peking

型に置換した系統を選抜し、異なる日長条件下での開花期関連遺伝子の日周変動とその開花期から、それぞれの QTL 間の遺伝子発現レベルにおける関連性を解析し、その律束段階を明らかにする。

4. 研究成果

(1) ダイズ開花期関連遺伝子の環境応答性
 ダイズの持つ開花期関連遺伝子座のうち、*E1*、*E2*、*E4* が分離する集団を札幌とつくばの二地点で評価を行い、その QTL の効果を比較することで、各遺伝子座の環境応答性について解析を行った。その結果、開花期に与える QTL の効果は、つくば市では *E1* 遺伝子が最も大きな効果を示すのに対し、札幌市では *E1* 遺伝子よりも *E4* 遺伝子の効果が大きくなる結果が得られた。さらに *E1* 遺伝子と *E4* 遺伝子の相互作用を 2 因子分散分析により解析を行ったところ、日長の長さに依存して *E4* 遺伝子の効果がより顕著になり、晩生型の対立遺伝子を持つ場合において開花期を遅延させるが、その効果は *E1* 遺伝子が優性の場合により顕著であることが明らかとなった (図 1)。このことは *E1* 遺伝子と光受容体である *E4* 遺伝子の間に相互作用が存在し、何らかの関連性があることを示唆している。

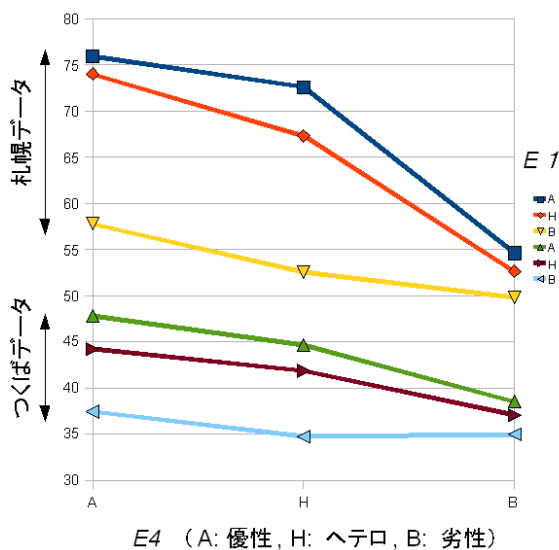


図 1 2 地点での *E1* 遺伝子と *E4* 遺伝子の QTL 解析に基づいた相互作用の解析 (遺伝子型は A: 晩生型アリル、H: ヘテロ接合型、B 劣性型アリルを示す)。

(2) ダイズ開花期関連遺伝子の同定

これまでに明らかとなっているダイズの開花期関連遺伝子の多くは、イネやアラビドプシスなどのモデル植物においても機能の同定がなされているものが多い。したがって、これまでの他の研究によって得られている知見を整理し、公開されたダイズのゲノム情報に対して活用するために、アラビドプシスとイネで報告されている開花期関連遺伝子を、その相同性に基づいて抽出した。その結果、109 の開花期関連遺伝子のうち、92 遺伝子について、高い相同性遺伝子を示すものがダイズゲノムに存在し、ダイズゲノム上に遺伝子として予測されている 46,367 遺伝子の中で 333 遺伝子が開花期関連遺伝子と高い相同性を示した。これらのダイズ開花期関連遺伝子は、これまでに作成された連鎖地図に位置づけられた DNA マーカー情報と共に利用することで、マップベースクローニングによる遺伝子単離に役立つことが期待される (論文 1)。

(3) ダイズの調位運動の測定

ダイズ品種エンレイを長日条件、短日条件下で育成し、連続明期、複数の明暗周期において、葉の調位運動がどのように変化するか、自動撮影装置と画像解析処理により測定を行った。その結果、連続明期下では 25.5-26 時間の周期で葉の運動が認められる一方、明暗周期において、暗期の開始時期において葉の就眠運動が生じることから、ダイズの生物時計のシグナルとして、ある一定の周期と暗期の開始そのものが、何らかのシグナルとして機能していると考えられた。さらに北海道

を中心とする高緯度地域で栽培されている品種では、連続明期下における就眠運動を示さず、過去の報告と一致した結果が得られた。このことから葉の調位運動が示すパターンには明確な品種差があるものと予測され、開花期関連遺伝子として同定されている6遺伝子座について、これらの概日リズムとの関係を解析した結果、これらの準同質遺伝子系統が示す葉の就眠運動には明確な差が現れなかった。このことは開花そのものを支配する経路と概日リズムを支配する経路が異なる可能性を示唆しており、今後より詳細な検討が必要であると考えられる。

(4) 準同質遺伝子系統を用いた開花期関連遺伝子の解析

開花期関連遺伝子座のうち、*E1* (開花抑制因子)、*E2* (生物時計の出力に関する遺伝子)、*E3* (光受容体遺伝子)、*E4* (光受容体遺伝子)、*FTB1* (新規の開花期 QTL のうち生物時計を構成する因子の一つ)、*FTH* (*FTB1* とは異なる新規の開花期 QTL のうち生物時計を構成すると推定される因子の一つ) の開花期関連遺伝子座を対象に、日本国産ダイズ品種であるエンレイの遺伝背景を基準に、それぞれの遺伝子座がエンレイの持つ対立遺伝子と異なるような準同質遺伝子系統を育成し、これらの遺伝子座とダイズフロリゲン遺伝子である *GmFT2a* および *GmFT5a* の発現およびその開花期における関係性について解析を行なった。実験に持ちいたそれぞれの準同質遺伝子系統は短日条件 (12 時間明期、12 時間暗期) では 25 日から 28 日程度で開花し、系統間に有意な差は認められなかった。一方、長日条件 (14.5 時間明期、9.5 時間暗期) では、それぞれの開花期関連遺伝子座の持つ効果に応じて、開花期が変化する結果が得られた (図 2)。

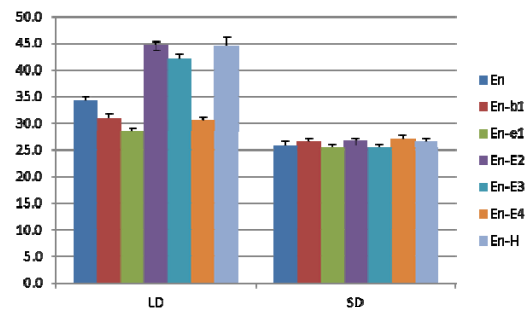


図 2 異なる日長条件下 (SD: 短日条件、LD: 長日条件) における準同質遺伝子系統が示す開花まで日数の違い (En: エンレイ、En-b1: 時計遺伝子が機能を失った系統、En-e1: E1 遺伝子が機能しない系統、En-E2: E2 遺伝子が機能する系統、En-E3: E3 遺伝子が機能する系統、En-H: 時計遺伝子が機能する系統をそれぞれ示す)

このような条件下において、開花時期とフロリゲン遺伝子、それぞれの開花期関連遺伝子の発現量をリアルタイム PCR 法によって解析を行なった結果、長日条件ではダイズフロリゲン遺伝子の 1 日を通した発現量とその形質は高い相関 ($r=0.83\sim 0.89$) を示した (図 3)。

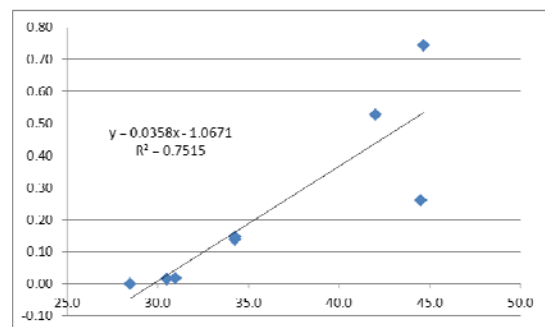


図 3 *E1* 遺伝子の総発現量 (縦軸) と各準同質遺伝子系統が示す開花まで日数 (横軸) とに認められる関連性

これらのフロリゲン遺伝子の発現調整に関わる因子を明らかにするために、個々の開花期関連遺伝子について、解析を行なったところ、晩生型の対立遺伝子を持つ系統について *E1* 遺伝子の発現量の上昇が認められ、一

方、劣性型の対立遺伝子を持つ系統では *E1* 遺伝子の発現が有意に低下していた。また *E2* 遺伝子、*FTH* 遺伝子、*FTBI* 遺伝子については、その発現パターンは概日リズムを示すが、劣性の対立遺伝子を持つことでその日週変動が低下することから、これらの遺伝子はそれ自身の遺伝子発現に対して正のフィードバック作用を持つものと考えられた。しかし、各々の遺伝子座が他の開花期関連遺伝子へ明確な影響を与える例は認められなかったことから、それぞれの遺伝子座が持つ *E1* 遺伝子への抑制効果は各々独立であり、複数の経路によって *E1* 遺伝子の発現を制御することで、ダイズの開花期を支配していると考えられる。加えて、*E1* 遺伝子を介する経路とは別にダイズフロリゲン遺伝子の発現を制御する仕組みも示唆された。今後、解析の範囲を拡大するとともに、複数の遺伝子座の組み合わせを持つ準同質遺伝子系統を利用することで *E1* 遺伝子の発現量に対する制御が相加的に増加するものか、何かしらの相互作用が存在するのか検討が必要であり、ダイズの開花期の理解を通じた収量性を制御する要因をより深く理解するためには、今後のさらなる研究が求められる。

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 1 件)

Watanabe S, Harada K, Abe J (2012) Genetic and molecular bases of photoperiod responses of flowering in soybean. *Breeding Science*、査読無、Vol. 61、pp. 531-543

[学会発表] (計 1 件)

① 渡辺啓史、山田哲也、夏正俊、阿部純、石本政男 (2010) ダイズ開花期関連遺伝子の環境応答性、日本育種学会秋季大会 (第 118 回)、平成 22 年 9 月 24 日、秋田県立大学

6. 研究組織

(1) 研究代表者

渡邊 啓史 (WATANABE SATOSHI)
農業生物資源研究所・ダイズゲノム育種研究ユニット・任期付研究員
研究者番号：40425541

(2) 研究分担者

なし

研究者番号：

(3) 連携研究者

なし

研究者番号：