

報告年月日	2005 年 2 月 22 日
報告者氏名	葛西 厚史
職種 (○で囲む)	研究員 ORA
所属 (RA のみ)	連合農学研究科 生物資源科学専攻 (弘前大学配属 H16 年度入学)
担当 (指導) 教員氏名	赤田 辰治
申請研究テーマ (50 字以内)	ダイズにおける種皮着色抑制および種皮着色変異に関する分子機構の解明
採用によって得られた成果 具体的に記すこと。 (今年度の申請をふまえて、何が解決され、何が問題として残ったか、予想していなかった結果など) 各項目の長さを適宜調整し、全体で 2 ページに収まるように記すこと。 図表を入れても構わない。	<p>研究背景</p> <p>日本の栽培ダイズの多くは黄ダイズである。黄ダイズの種子生産において最も重要な形質は種子の“黄色い”外観である。もしその外観を損ねると品質の大きな低下を招く。黄ダイズは種皮の着色が抑制されることから中身が薄く透けて見え黄色を呈している。黄ダイズの種皮着色抑制について、<i>I</i> 遺伝子の関与が遺伝学的解析により示唆されている。これまでの研究により、黄ダイズの種皮着色抑制が、色素合成に重要な酵素であるカルコンシンターゼ (CHS) をコードする遺伝子の PTGS (Post-transcriptional gene silencing) によることが判明した。また、<i>I</i> 遺伝子の構造についてその候補とされる領域を黄ダイズ品種トヨホマレのゲノムから特定した。現在、その機能を調査中である。</p> <p>目的</p> <p><u>黄ダイズにおける低温着色現象の分子機構の解明</u></p> <p>黄ダイズは開花後約 7 日から 10 日間、17~18℃以下の低温にさらされると、その低温に応答してへそ周辺が着色される。さらには裂皮も引き起こされるため、黄ダイズの品質が著しく低下する。このことから、低温着色現象は北海道などでは深刻な問題である。また、低温着色程度が品種および系統間で異なることが判明しており、遺伝的な要因が関与している可能性が高い。そこで本研究では、低温着色現象およびその抵抗性に関する分子遺伝学的な機構の解明を目的とする。</p> <p>研究方法</p> <p><u>低温着色現象の分子機構の解明</u></p> <p>低温着色現象は、低温が <i>I</i> 遺伝子の種皮着色抑制作用である CHS 遺伝子の PTGS 誘導を阻害するために起こるのではないかという仮説を立てた。もしそうであれば、低温により CHS 遺伝子の PTGS 誘導が阻害され種皮における CHS 遺伝子転写産物量が増加する可能性が考えられる。</p> <p>この可能性を検討するため、本研究では低温着色程度の強い黄ダイズ品種トヨムスメを材料として用いた。開花 6~9 日後から 14 日間低温で育成した個体 (低温処理個体と省略) と同じ期間を適温で育成した個体 (コントロール個体と省略) の種子 (新鮮重 300~400 mg) から低温着色が強く見られるへそ周辺の種皮のみを切りだして RNA を抽出した。得られた種皮 RNA を用い、CHS 遺伝子プローブを用いたノーザンハイブリダイゼーションによって、低温処理個体とコントロール個体の種皮における CHS 遺伝子の転写産物量を定量比較した。</p> <p><u>低温着色抵抗性の分子機構の解明</u></p> <p>近年、北海道の十勝農業試験場にて低温着色検定により低温着色抵抗性の系統</p>

が選抜されている。これら低温着色抵抗性の系統は、低温でも *I* 遺伝子の作用 (*CHS* 遺伝子の PTGS) が影響を受けていないと考えられ、*I* 遺伝子候補領域の構造に何らかの違いがあるのではないかと考えた。本研究では、低温着色抵抗性系統である十育 237 号を用いて *I* 遺伝子候補領域の構造解析を行い、トヨホマレ (低温着色感受性だがトヨムスメより着色程度は弱い) と比較調査を行った。

成果と考察

低温着色現象の分子機構の解明: 仮説によれば、低温処理個体の方が *CHS* 遺伝子の転写産物量の増加が認められると考えられたが、予想に反してコントロール個体と低温処理個体間で顕著な有意差は見られなかった (Fig.1)。この理由として、以下のことが考えられた。すなわち、低温の影響を受ける期間が開花受精後 1~2 週間のごく限られた時期であり、この時期の種皮細胞群で *CHS* 遺伝子の作用つまり *CHS* 遺伝子の PTGS 誘導が阻害されることにより、多くの種皮細胞が着色されこれらの着色細胞が将来の低温着色部分になっている可能性がある。そして、これらの着色部分でも成長に伴って *CHS* 遺伝子の PTGS 機能が回復し、*CHS* 遺伝子の転写産物量が再びコントロール個体と同じレベルまで減少したと考えれば本結果になんら矛盾はない。この可能性を検証するため今後は、低温の影響を受ける時期により近い未熟な種皮で *CHS* 遺伝子転写産物量の定量比較実験を行う必要がある。

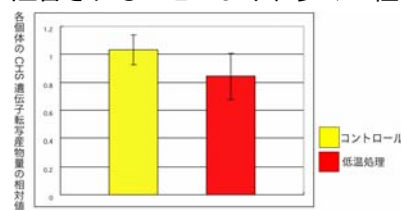


Fig.1 コントロールおよび低温処理個体における *CHS* 遺伝子転写産物量の比較

低温着色抵抗性の分子機構の解明: いくつかの制限酵素について RFLP 分析を行い、トヨホマレと *I* 遺伝子候補領域について調査した。その結果、*Eco* RI を用いた場合のみ、十育 237 号とトヨホマレの間に明らかな RFLP が見出された。そこで、十育 237 号に特異的な領域を単離し、塩基配列を決定した。その結果、十育 237 号の対応領域はトヨホマレに比べ 1.1kb にわたる領域が全く異なる塩基配列に置き換わっており、その中に *Eco* RI サイトの存在することが明らかになった。このことから、十育 237 号はこれまでの *I* 遺伝子候補領域の構造とは一部の領域で異なっており、この変異領域が低温着色抵抗性に関与している可能性が示唆された。また、このデータを基に低温着色抵抗性の品種を選抜するためのマーカーが設計できるかもしれない。今後、十育 237 号の種皮着色抑制についてさらに詳細な解析が必要であると考えられる。

発表論文など

Senda M, Masuta C, Ohnishi S, Goto K, Kasai A, Sano T, Hong J S, and MacFarlane S (2004) Patterning of virus-infected *Glycine max* seed coat is associated with suppression of endogenous silencing of chalcone synthase genes. *Plant Cell* 16:807-818.
Kasai A, Watarai M, Yumoto S, Akada S, Ishikawa S, Harada T, Niizeki M and Senda M (2004) Influence of PTGS on Chalcone Synthase Gene Family in Yellow Soybean Seed Coat. *Breeding Science* 54: 355-360.

学会発表など

葛西厚史・藤森桂・赤田辰治・石川隆二・原田竹雄・新関稔・千田峰生 (2004) 黄ダイズおよびその種皮着色変異体の種皮に存在する各 *CHS* 遺伝子メンバーの転写産物量に関する比較解析. 第 105 回日本育種学会 東京大学
葛西厚史・湯本節三・福田隆史・赤田辰治・石川隆二・原田竹雄・新関稔・千田峰生 (2004) ダイズにおける *I* 遺伝子座に由来する種子着色突然変異とカルコンシンターゼ遺伝子多型についての連鎖分析日本育種学会・日本作物学会 北海道談話会 北海道大学