

# ダイズの分子育種に向けて LjMYB12 を利用した フラボノイド生合成関連遺伝子の発現制御

植物育種科学講座 植物遺伝資源学分野  
新井麻衣子

【背景と目的】ダイズ(*Glycine max*)は、様々な生理機能を持つ成分を豊富に含む。近年、それらの機能性に注目した育種が進められている。フラボノイドも代表的な機能性成分のひとつである。しかし、これら機能性成分の含量は環境の影響を大きく受ける。よって、フラボノイドを高位安定に蓄積するダイズの育種が望まれる。そこで、フラボノイド生合成経路に関わる酵素遺伝子の発現を一括して制御する MYB 転写因子に注目した。本研究は、ミヤコグサから単離された *LjMYB12* 遺伝子をダイズにおいて過剰発現することにより、フラボノイド生合成に関連する酵素遺伝子の発現制御を試みた。また、作出した形質転換体の解析を通して、ダイズのフラボノイドに関わる分子育種の可能性について考察した。

【方法】*LjMYB12* cDNA を CaMV35S プロモーターに連結した過剰発現ベクターを構築した。日本ダイズ品種カリユタカを供試材料とし、アグロバクテリウム法によって *LjMYB12* 遺伝子を導入した。形質転換体における導入遺伝子の固定化に際し、サザンブロット分析および定量 RT-PCR によってコピー数および遺伝子型を決定した。固定化した *LjMYB12* 過剰発現個体 (*35S:LjMYB12*) の葉組織および開花後 20 日の未熟種子を用いて、定量 RT-PCR によるフラボノイド生合成に関わる酵素遺伝子の発現解析を行った。対照区として、野生型カリユタカおよび *GFP* 遺伝子を持つ形質転換カリユタカを用いた。

【結果】225 個の外植片から T<sub>0</sub> 世代の 17 系統において *LjMYB12* 遺伝子の導入を確認した(形質転換効率 7.6%)。このうち T<sub>1</sub> 世代において導入遺伝子のコピー数が 1 コピーかつ正常に発現していた 1 系統を固定化し、フラボノイド生合成酵素遺伝子の発現解析に用いた。その結果、葉において *4-Coumarate:CoA ligase1 (4CL1)*、*Chalcone isomerase1A (CHI1A)*、*CHI2* および *Flavonol synthase (FLS)* の発現量が有意に増加した(図)。また、未熟種子では *FLS* の発現量が有意に増加した。

【考察及び結論】*LjMYB12* の過剰発現により、複数のフラボノイド生合成酵素遺伝子の発現が増加した。このことから、フラボノイド生合成経路全体が活性化されたことが示唆された。したがって、*LjMYB12* がフラボノイドを高位安定的に蓄積するダイズの分子育種に利用できると思われる。

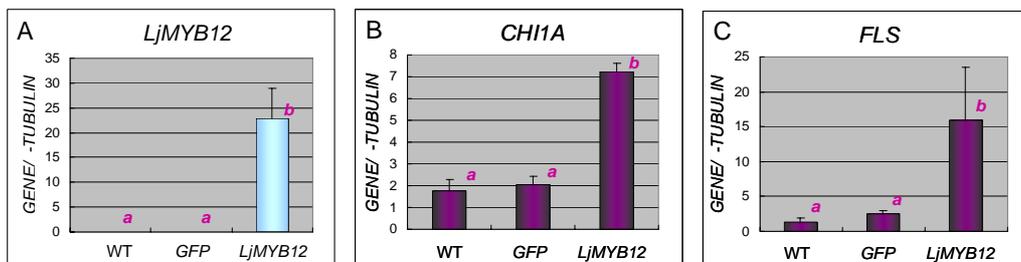


図 葉における *LjMYB12* およびフラボノイド生合成酵素遺伝子の発現  
 $\beta$ -tubulin によって標準化された mRNA の蓄積量を相対値で示した  
異なるアルファベットが付与された系統間は 5%水準での有意差があることを表す