

ダイズ遺伝資源に認められる stay-green 変異を引き起こす原因因子の解析

生物資源科学専攻 植物育種科学講座 植物遺伝資源学 小林秀樹

1. 目的

核型 stay-green 突然変異体は、種子の登熟中にクロロフィルの分解が抑制される変異体の一つであることが知られている。ダイズではこれまでに、細胞質因子によって支配される細胞質型と核由来の *GmSGR1* および *GmSGR2* 遺伝子の変異によって支配される核型の2種類が報告されている。核型 stay-green 突然変異体では *GmSGR2* 遺伝子における一塩基の欠失に加え、*GmSGR1* 遺伝子内に構造変異があることが示唆されているが、その詳細は明らかにされていない。本研究では、ダイズにおける核型 stay-green 突然変異体が stay-green 形質を示す原因因子について解析した。

2. 方法

核型 stay-green 品種である青丸くんの DNA を用い、Genome Walker DNA walking 法によって、変異個所が明らかにされていない *GmSGR1* 遺伝子の配列決定を行った。加えて、核型 stay-green 突然変異品種であると考えられるダイズ 19 品種系統の *GmSGR1* および *GmSGR2* 遺伝子について、青丸くんと同様の変異が存在するか確認を行った。さらに *GmSGR1* および *GmSGR2* 遺伝子の変異が核型 stay-green 突然変異体の原因因子であることを明らかにするため、黄ダイズにおいて *GmSGR1* および *GmSGR2* 遺伝子をノックダウンした形質転換体を作成し、標的遺伝子の発現解析を行うとともに、完熟種子におけるクロロフィルを高速液体クロマトグラフィーで定量した。

3. 結果と考察

青丸くんの DNA を用いて *GmSGR1* 遺伝子の配列解析を行ったところ、第四エクソン内にトランスポゾン様配列が挿入されていることが明らかとなり、その挿入配列の全長は約 2.2 kb であった。次に、核型 stay-green 突然変異品種であると考えられるダイズ 19 品種系統の *GmSGR1* および *GmSGR2* 遺伝子について変異性を確認したところ、その全てにおいて青丸くんと同じ遺伝子型を持つことが明らかとなった。次に、*GmSGR1* および *GmSGR2* 遺伝子をノックダウンした形質転換体ダイズの解析を通して、*GmSGR* 遺伝子の機能解析を行った。形質転換体ダイズの中には対象個体と比べ、有意に両遺伝子の発現が抑制されている個体が存在した。これらの個体の完熟種子において、クロロフィルの蓄積を確認することができ、*GmSGR1* および *GmSGR2* 遺伝子をノックダウンすることで stay-green 形質を再現することができた。

4. まとめ

本研究を通して、核型 stay-green 突然変異体が stay-green 形質を示す原因因子は *GmSGR1* および *GmSGR2* 遺伝子の機能欠失であることが証明された。加えて、本研究で供試した核型 stay-green 突然変異体は全て同一の変異を持つことが明らかとなり、同一のドナーに由来する可能性が示唆された。