

ジュウロクササゲ (*Vigna unguiculata* (L.) Walp. ssp. *unguiculata* cv.-gr. *sesquipedalis*) の軟莢性因子のファインマッピング

学籍番号 47-166323

応用生物資源学分野 小林優生

指導教員 内藤健 准教授

ジュウロクササゲ (*V. unguiculata* (L.) Walp. ssp. *unguiculata* cv.-gr. *sesquipedalis*) は蔓性で一年生の植物であり、熱帯性で高温や乾燥に強く、真夏に結実する。ジュウロクササゲは主に東南アジア、東アジアで栽培されており、莢は長く、かつ軟らかい莢をつける。この莢が軟らかいという形質（軟莢性）により、ジュウロクササゲの若莢は食糧として利用できる。したがってジュウロクササゲの軟莢性因子を同定し、それを応用することで他のマメ科作物の莢を軟化させ、食糧に転換できる可能性がある。そこで先行研究では、祖先野生種との交雑集団を用いた軟莢性に関する QTL 解析が行われた。その結果から軟莢性を支配する原因遺伝子が座乗する候補領域は、第 7 染色体上の 12.9 cM~19.6 cM (2.3 Mbp) の間だと報告されている (1-4)。本研究では、先行研究から受け継いだ戻し交雑集団の世代をさらに進め、軟莢性の原因遺伝子を同定することを目指した。その結果、13 遺伝子まで絞り込むことに成功した。また、莢片のリグニン染色観察により、莢片内部のリグニン層の消失が軟莢性の直接要因であることが明らかとなり、13 遺伝子のうちリグニン合成に関与する遺伝子は 1 つしかなかった。以上より、それが原因遺伝子である可能性が極めて高いと考えられた。

【キーワード】

ジュウロクササゲ、軟莢性、リグニン、ファインマッピング

【結果】

莢片のリグニン染色観察

莢の硬軟は二次細胞壁構成成分の違いによる可能性が考えられたため、その主要構成成分であるリグニンの有無を調査した。ササゲの祖先野生種、ジュウロクササゲ、分離集団内で莢が硬い個体および軟らかい個体の莢片内リグニンを染色して顕微鏡観察を行った結果、野生種および莢が硬い個体では莢片内部にリグニン層が観察されたが、ジュウロクササゲおよび莢が軟らかい個体ではその層が全く観察されなかった (図 1)。したがって、莢の硬軟とリグニン層の有無は例外なく一致したため、莢片内部のリグニン層が消失することにより軟莢性が決定されることが明らかとなった。



図 1. リグニン染色された莢の横断切片

A. 祖先野生種の莢

B. ジュウロクササゲの莢

C. 分離集団内で莢が硬い個体

D. 分離集団内で莢が軟らかい個体

図中のスケールバーは 1 mm を示す。

後代検定

まず、先行研究で報告された候補領域 (領域 A、図 2) の妥当性を確かめるために、祖先野生種とジュウロクササゲに由来する戻し交雑集団を使用して遺伝子型と表現型を調査した。

その結果、領域 A の遺伝子型が祖先野生種型であるにも関わらず、莢が軟らかい個体が存在したことから、領域 A は候補領域ではないことが明らかとなった (図 2)。一方、領域 B の遺伝子型と表現型が一致したことから、候補領域は領域 B であることが明らかとなった (図 2)。したがって、領域 B について遺伝子型と表現型の関係を大規模な集団を用いて調査することにした。

領域 B における遺伝子型解析と表現型評価

領域 B から候補領域をさらに絞り込むため、新たなマーカーを設計し、2400 個体の交雑集団で遺伝子型解析と表現型評価を行った。その結果、個体 2 においてマーカー A より右側の遺伝子型がヘテロ型であり、莢が硬かったのに対し、個体 3 においてはマーカー B より左側の遺伝子型がヘテロ型であり、莢が硬かった (図 3)。以上よりマーカー A とマーカー B の間に原因遺伝子が座乗することが明らかとなり、候補領域は 180 kbp となった (図 3)。

13 遺伝子のタンパク質の機能の推定

上述の候補領域内に座乗する遺伝子は 13 個であった (図 4)。そこで、13 遺伝子にコードされるタンパク質の機能を推定するために、それらのアズキゲノムでの同祖遺伝子のアミノ酸配列をシロイヌナズナの全遺伝子のアミノ酸配列に対して相同性検索を行った。その結果、13 遺伝子のうち TR23087 だけがリグニン合成に関与する同祖遺伝子であり、MYB26 をコードすることが示唆された。これはリグニン合成経路の最も上流に位置する転写因子である。以上より、軟莢性の原因遺伝子は TR23087 である可能性が高いと考えられる。

【引用文献】

1. Kongjaimun et al., Genome. 2012a; 55(2): 81-92.
2. Kongjaimun et al., Ann Bot. 2012b; 109: 1185-1200.
3. Kongjaimun et al., Euphytica. 2013; 189:217-223.
4. Suanum et al., Mol Breeding. 2016; 36: 80.

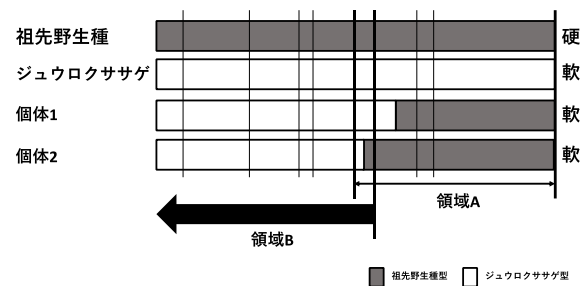


図 2. 後代検定で使った個体の遺伝子型および表現型。灰色は祖先野生種型、白はジュウロクササゲ型をそれぞれ示す。右の硬は莢が硬い表現型であることを、軟は莢が軟らかい表現型であることを示す。

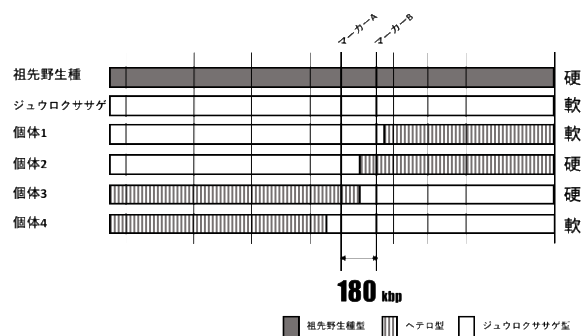


図 3. 新たな交雑集団での遺伝子型および表現型。灰色は祖先野生種型、白はジュウロクササゲ型、ストライプはヘテロ型の遺伝子型をそれぞれ示す。右の硬は莢が硬い表現型であることを、軟は莢が軟らかい表現型であることを示す。祖先野生種型は優性のため遺伝子型がヘテロ型の場合、莢は硬くなる。

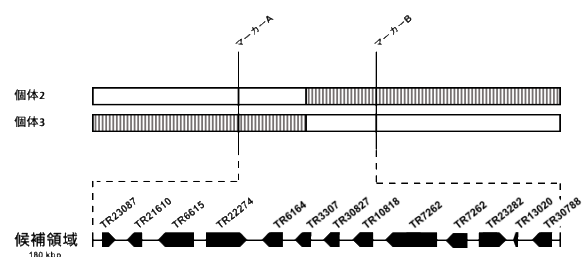


図 4. 軟莢性因子が座乗すると考えられる領域の物理地図。各遺伝子は黒のホームベースで示し、上部には遺伝子名を示す。図中のマーカー A、マーカー B および個体 2、個体 3 は図 3 のものと同様のマーカーおよび同様の個体を示す。