

平成 21 年度シーズ発掘試験（発掘型）研究報告書

報告日：平成 22 年 4 月 27 日

技術分野	A
------	---

課題名：ダイズのハイブリッド品種育種に向けた温度感応性雄性不稔植物の開発

研究期間：平成 21 年 7 月 16 日～平成 22 年 3 月 31 日

1. 担当コーディネータ

氏名（役職）	福澤 稔（産学連携コーディネーター）		印
所属機関名	国立大学法人信州大学		
連絡先	所在地	〒399-4598 長野県上伊那郡南箕輪村8304	
	TEL/FAX	0265-77-1647	
	E-mail	fminoru@shinshu-u.ac.jp	

2. 代表研究者（代表研究者のみ記入してください。）

氏名（役職）	齋藤 勝晴（准教授）		印
所属機関名	国立大学法人信州大学農学部		
連絡先	所在地	〒399-4598 長野県上伊那郡南箕輪村8304	
	TEL/FAX	0265-77-1407	
	E-mail	saitok@shinshu-u.ac.jp	

3. 共同研究者（JST と委託研究契約を締結した共同研究機関の場合のみ記入してください。）

氏名（役職）			
所属機関名			
連絡先	所在地		
	TEL/FAX		
	E-mail		

4. 試験研究の結果報告

(1) 試験内容

本研究では、ダイズの温度感应性雄性不稔系統を選抜することを目的とし、1) 突然変異誘発剤処理によるダイズの突然変異個体の作成と、2) *nup85* 変異体のスクリーニングを行った。

1. 突然変異誘発剤処理によるダイズの突然変異個体の作成

ダイズ品種ギンレイから *nup85* 変異体を選抜するため、ダイズ種子を突然変異誘発剤で処理し突然変異個体の作出を行った。まず、突然変異誘発剤のエチルメタンスルフォネートをダイズ種子に処理し、M1 世代植物を作成した。本小課題では、M1 植物から M2 種子を採種する予定であったが、M1 植物の生育が遅れたため M2 種子を採種するまでには至らなかった。現在、M2 種子を採種するため、引き続き M1 植物を栽培している。ダイズの幼植物を栽培するため植物栽培用恒温装置を導入し利用した。

2. *nup85* 変異体のスクリーニング

本小課題では、*nup85* 遺伝子を指標として変異体のスクリーニングを行うため、ダイズ *NUP85* 遺伝子のクローニングを行った。当初計画通り試験研究を実施し、ダイズのゲノム情報を元に RT-PCR 法を用いてダイズ *NUP85* 遺伝子をクローニングした。本小課題では、遠心器用ローターラックを購入し核酸精製に利用した。

(2) 得られた成果

1. 突然変異誘発剤処理によるダイズの突然変異個体の作成

0.5%エチルメタンスルフォネート (EMS) または 0.2% EMS にダイズ種子を 4 時間浸漬し突然変異誘発剤処理を行った。ダイズを発芽させ、ダイズ実生をインキュベーター内で栽培した。0.5% EMS 処理ダイズの発芽率と 0.2% EMS 処理ダイズの発芽率はほぼ同程度であった (表 1)。本小課題では、M1 植物から M2 種子を採種する予定であったが、M1 植物の生育が遅れたため M2 種子を採種するまでには至らなかった。現在、M2 種子を採種するため引き続き M1 植物を栽培しており、今後 M2 あるいは M3 集団から *nup85* 変異体をスクリーニングし温度感受性を示す雄性不稔個体の選抜を行う。

2. *nup85* 変異体のスクリーニング

DNA データベースの情報をもとに、*NUP85* 遺伝子増幅のための PCR プライマーを設計した。ダイズの葉と根から全 RNA を抽出し、SuperScript III 逆転写酵素 (Invitrogen) を用いて cDNA を合成し PCR 増幅により *NUP85* 遺伝子のクローニングを行った。葉と根からクローニングした *NUP85* 遺伝子の塩基配列を解析したところ、5 残基のアミノ酸配列の違いが見られ、葉と根では発現している *NUP85* 遺伝子が異なることが明らかとなった (図 1)。また、ダイズとダイズ以外の植物の *NUP85* 様遺伝子のアミノ酸配列を系統解析で比較したところ、ダイズの葉と根で発現する *NUP85* は非常に相同性が高く、ダイズに種分化したあとに重複した遺伝子と考えられる (図 2)。ダイズの *NUP85* は同じマメ科であるミヤコグサの *NUP85* と同じクレードを形成した。当初の計画通りダイズ *NUP85* 遺伝子の塩基配列を決定できたため、今後は *nup85* 変異体を TILLING 等によりスクリーニングするためプライマー設計の情報として活用する。

表1. 0.5% EMS (a) と0.2% EMS (b) 突然変異誘発剤処理を行ったダイズ実生の発芽率 (%)

	0.5% EMS	0.2% EMS
試験 1	12	16
試験 2	28	24

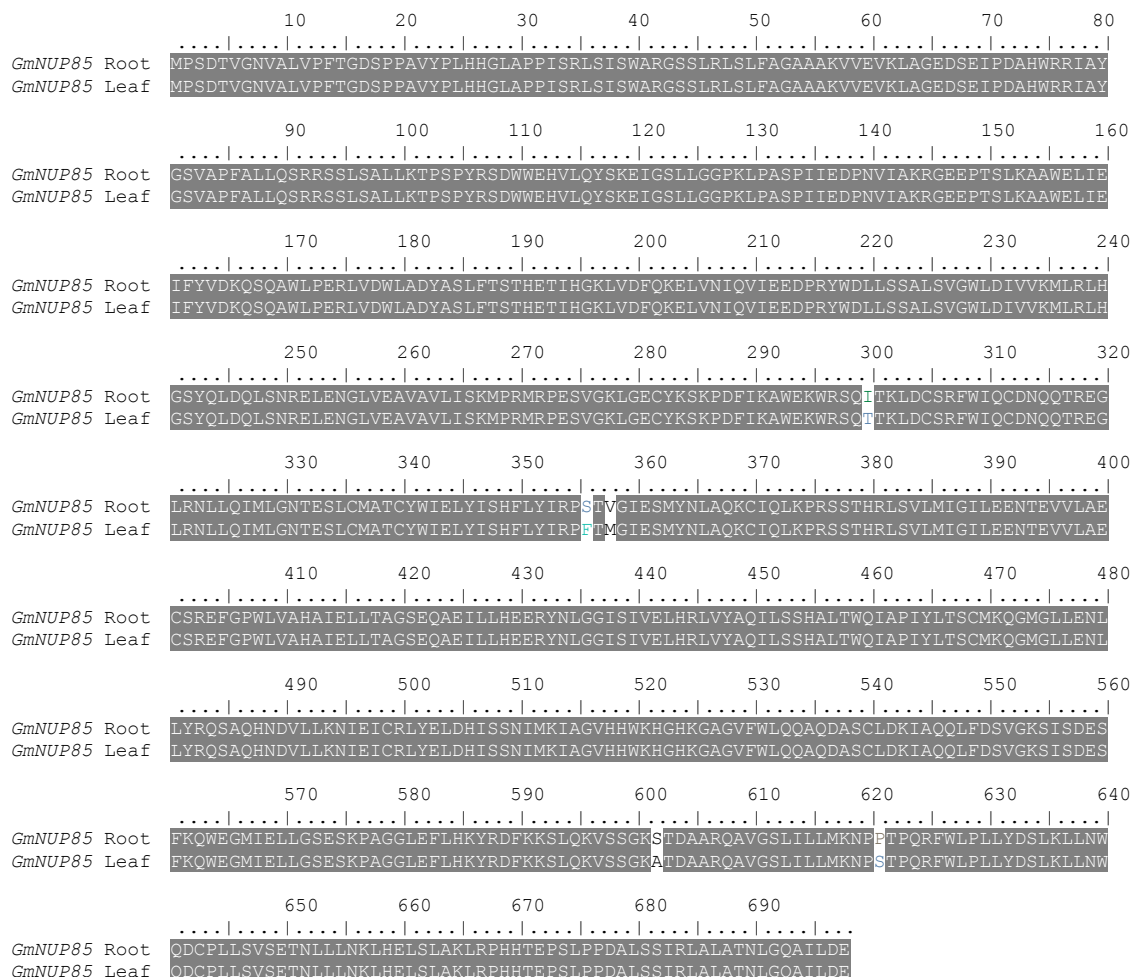


図1. ダイズ品種ギンレイの根 (上段) と葉 (下段) から単離した *GmNUP85* 遺伝子のアミノ酸配列。灰色で示した領域は根と葉から単離した *GmNUP85* 遺伝子のアミノ酸配列が一致する。

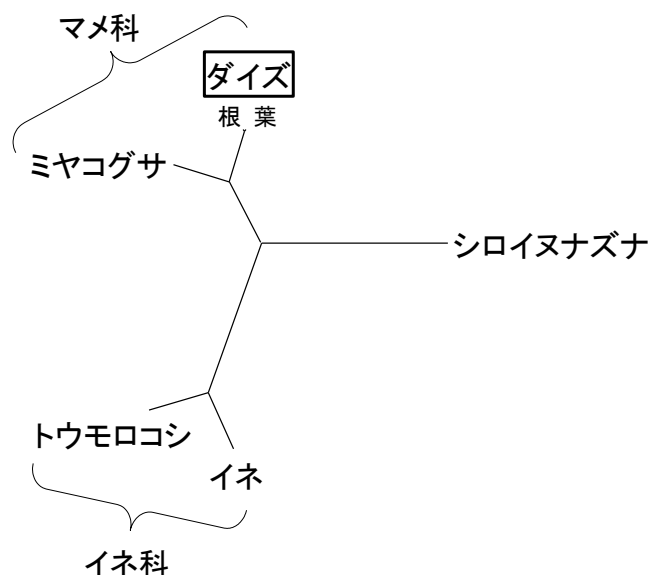


図2. ダイズ品種ギンレイから単離した *GmNUP85* 遺伝子とその他の植物の *NUP85* 遺伝子の系統関係。アミノ酸配列をもとに近隣結合法を用いて作成。

外部発表・特許出願等

* 今回の研究課題成果についてのみ、平成21年度中に掲載・発表・出願等したものをカウントしています。

項 目		数
① 発表論文	国内論文数	0
	海外論文数	0
② 口頭発表	国内発表数	0
	海外発表数	0
③ マッチングイベントへの参加（発表）	参加（発表）数	0
④ 展示会出展	出展数	0
⑤ 特許出願	国内出願数	0
	外国出願数	0
⑥ 掲載/放映 (採択記事は除く)	雑誌掲載数	0
	新聞掲載数	0
	テレビ放映数	0
⑦ 他事業への展開	採択数	0

①発表論文

なし

②口頭発表 (代表研究者以外の方が発表した場合のみ、発表者氏名と所属を記載しています。)

なし

③マッチングイベントへの参加 (発表)

(代表研究者以外の方が発表 (説明) した場合のみ、発表 (説明) 者氏名と所属を記載しています。)

なし

④展示会出展 (③マッチングイベントを除く)

(代表研究者以外の方が説明した場合のみ、説明者氏名と所属を記載しています。)

なし

⑤特許出願：(4)に記載。

⑥掲載・放映

なし

⑦他事業への展開

なし

(3) 今後の展開

現在、*nup85* 変異体スクリーニングのための M1 個体を栽培しており、本試験終了後 1 年以内には M2 種子を採取しスクリーニングに供する予定である。また、本試験で得られたダイズ *NUP85* 遺伝子の情報を日本 DNA データバンクに登録し公表する予定である。将来的には、M2 世代の *NUP85* 遺伝子を TILLING 法でスクリーニングし、*nup85* 変異体を単離した後に温度感受性や雄性不稔性を評価する。ダイズ *nup85* 変異体の選抜から、温度感受性雄性不稔を示す有望な系統が見出されれば、共同研究企業または研究機関を探し、種苗法に基づく品種登録の要件をみたすための試験を行い、最終的には品種登録を行いたい。

(4) 知的財産権について

今後実施するスクリーニングによりダイズ *nup85* 変異体が選抜され、温度感受性雄性不稔を示す有望な系統が見出されれば、種苗法に基づく品種登録の要件をみたすための試験を行い、最終的には品種登録を行う。

(5) 今後のフォローアップ等について（コーディネータ記載）

企業化に向け、本試験終了 1 年後までに変異体プールの充実を図りつつ、地元企業を中心に共同研究先を検討する。3 年後までには、変異体プールから *nup85* 変異体を選抜し特性評価を行うとともに、企業と品種登録の共同出願に向け共同研究の交渉を行う。それ以降は品種登録に向け共同研究を行うとともに、市場調査を実施しダイズ育種素材の商品化を進める。