

「出雲おろち大根」有色系統におけるアントシアニン関連遺伝子の変異解析とその育種利用

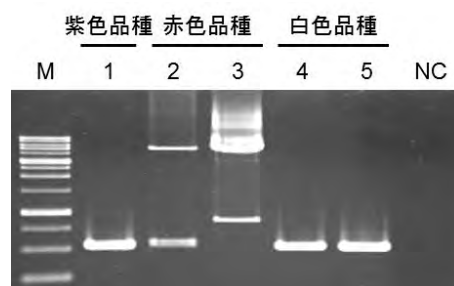
農林生産学科 准教授

中務 明

研究成果の概要

【目的】我々は 2006 年度より料理の色どりや食品色素源などの利用幅拡大を目指して、紫系および赤系の「出雲おろち大根」の育成を進めている。これらの主要色素は紫系ではアシル化したシアニジン 3-ソホロシド 5-グルコシド，赤系ではアシル化したペラルゴニジン 3-ソホロシド 5-グルコシドである。アントシアニン色素はその生合成経路におけるフラボノイド 3'-水酸化酵素 (F3'H) の働きにより基本骨格の B 環の 3' 位が水酸化されペラルゴニジンからシアニジンが誘導される。本研究ではダイコン園芸品種における赤色着色の要因を探るために、根部が紫色，赤色および白色の品種を用いて F3'H 遺伝子の単離・発現解析および gDNA 構造解析を行った。さらに，変異した F3'H の遺伝子を識別する DNA マーカーの適応性を検討した。

【結果および考察】‘からいね赤’の紫色の着色部位から 1 アミノ酸が異なる 2 種類の F3'H 遺伝子を単離した。これらの遺伝子は 511 個のアミノ酸をコードし，*Brassica napus* の F3'H 遺伝子と 97% の相同性を示した。RT-PCR による発現解析の結果，根部着色部位では赤色品種は紫色品種に比べて F3'H 遺伝子の発現量が減少していた。gDNA を鋳型として F3'H 遺伝子のエキソン 1 領域を PCR 増幅した結果，紫色および白色品種「出雲おろち大根」「スサノオ」と「耐病総太り」では予想された約 500bp の増幅バンドのみ確認されたのに対し，赤色品種の「長安青丸紅心」（以下「紅心」）では約 500bp と約 5kbp，「紅くるり 521」では約 800bp と約 5kbp の増幅バンドが確認された（第 1 図）。赤色品種における第一エキソンのシークエンスの結果，「紅心」では正常なエキソン 1 領域の配列と gypsy/Ty-3 タイプのレトロトランスポゾンが挿入された配列が確認され，「紅くるり 521」では上記と同じレトロトランスポゾンが挿入された配列とレトロトランスポゾンが抜けて片側の LTR 領域が残った配列が確認された。この挿入配列に特異的なプライマーを作成し，F3'H 遺伝子変異の識別を試みた。PCR 解析の結果，「スサノオ」は約 450bp のみ（正常型ホモ），「紅心」は約 750bp のみ（変異型）の増幅バンドを示し，「スサノオ」と「紅心」の F₁ においては紫色または白色の根部着色を示す 9 個体で約 450bp，750bp の両方（正常型+変異型）のバンドが得られた。F₂ においては上記 3 種類のバンドパターンのいずれかを示した。紫色個体は正常ホモまたは正常+変異，赤色個体は変異ホモのバンドパターンを示し，根部着色個体の表現型とバンドパターンが一致したことより，DNA マーカーの適応性が確認できた。



第 1 図 エキソン 1 領域の PCR 増幅バンドパターン。

M: 1kbp マーカー，1: ‘からいね赤’，
2: ‘長安青丸紅心’，3: ‘紅くるり 521’，
4: ‘スサノオ’，5: ‘耐病総太り’，
NC: ネガティブコントロール。

社会への貢献・その他

平成 27 年 11 月 7 日に安来市にて開催された生物資源科学部ミッション研究課題成果報告会において、『「出雲おろち大根」有色系統におけるアントシアニン関連遺伝子の変異解析とその育種利用』のタイトルで成果発表を行った。一般の方を含めた約 15 名の参加者があり，「出雲おろち大根」有色系統に関する活発な議論が出来た。今後紫色および赤色の着色形質の固定化を進めていくことで，地域への普及に貢献できると考えられる。

【学会発表】 柘川貴紀・千 慶晟・中務 明・小林伸雄「根部着色を有するダイコン園芸品種におけるフラボノイド 3'-水酸化酵素遺伝子 (F3'H) の解析」園芸学会 H28 年度春季大会 2016 年 3 月 26-27 日に東京農業大学厚木キャンパス (神奈川)