HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	ダイズの感光性の制御機構と遺伝的多様性に関する分子遺伝学的研究［全文の要約］
Author(s)	徐, 美兰
Description	この博士論文全文の閲覧方法については、以下のサイトをご参照ください。 https://www.lib.hokudai.ac.jp/dissertations/copy-guides/
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第11100号
Issue Date	2013-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/53951
Type	doctoral thesis
File Information	Xu_Meilan_summary.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

博士論文要約

ダイズの感光性の制御機構と遺伝的多様性に関する分子遺伝学的研究

平成25年度 博士論文

北海道大学 大学院 農学院

生物資源科学専攻　博士課程

徐 美兰 (XU MEILAN)

花成の時期は、植物種のローカルな、またグローバルな環境への適応を規定する重要な要素である。花成に影響を与える要因の中でも、日の長さ（日長）は、温度とともに花成を調節する主な環境要因である。ダイズは、一般に短日植物として捉えられるが、幅広い緯度の下で栽培される適応性の高い作物である。この広域適応性は、地域毎に適した開花特性をもたらす多様な遺伝的機構が支えている。特に、高緯度に適応した品種の多くは、感光性が低下または欠落している。本研究では、ダイズにおける感光性の分子遺伝学的機構の解明を目指して、開花前および開花後の光周期反応を制御する遺伝的機構の多様性、ならびに、ダイズの主要な感光性遺伝子 *E1* とそのホモログの感光性の制御機構における機能について検討を加えた。本論文は 6 章からなり、得られた実験結果を基に、ダイズにおける光中断の現象を説明する新たなモデルと、開花前ならびに開花後の光周期反応を説明する主要な開花遺伝子のネットワークを提案している。以下、本研究で得られた結果を要約する。

第2章では、高緯度に位置する様々な地域から導入された非感光性品種・系統について、DNAマーカーを用いて感光性遺伝子座 (*E1*、*E2*、*E3* および *E4*) の遺伝子型を推定し、感光性遺伝子型と開花前および開花後の光周期反応との関係を解析した。塩基配列解析の結果、*E3* 座には新たな機能欠損遺伝子が見いだされ、供試系統は15の多遺伝子座遺伝子型に分類された。すなわち、ダイズにおいて、非感光性は、おもに *E1*、*E3* および *E4* 座の多様な対立遺伝子の組み合わせの結果として、独自にそして繰り返し選抜されてきた。これらの遺伝子型は、さらに対立遺伝子の機能に基づいて3つの遺伝子型グループ (*e3/e4* 型、*e1*/*E3*/*e4* または *e1*/*e3*/*E4* 型、*e1-as*/*e3*/*E4* 型) に大別することができた。その中でも、PHYA機能欠損型である *e3/e4* 型の頻度が最も高く、PHYA の機能欠損がダイズの非感光性をもたらす主要な遺伝子型であった。これに加えて、ダイズのフロリゲン遺伝子 (*FT2a* と *FT5a*) の抑制因子と考えられている *E1* の機能欠損と、これらの遺伝子とは異なる新規の非感光性遺伝子の関与が示唆された。光周期反応は、開花のみならず開花後の栄養および生殖生長にも影響を与えており、この反応にも *E3* および *E4* 遺伝子座が支配するPHYAが関与していた。さらに、同定された3つ遺伝子型グループは、開花後の主茎の生長や登熟期など、開花後の栄養生長や生殖生長については異なった反応を示した。

第3章では、早生品種であるハロソイとトヨムスメならびにハロソイの非感光型 NILを用いて短日と長日における開花遺伝子の発現解析を行い、発現様式の差異から、多様な感光性機構を特徴づけた。トヨムスメは *E1* が欠失した *e1-nl* 型である。ハロソイ (*e1-as*型) では、短日で *E1* の発現が抑制され、*FT2a* と *FT5a* の発現が上昇して開花が誘導されるが、長日では PHYA の制御下で *E1* の発現が誘導され、*FT2a* と *FT5a* の発現を抑制する。一方、トヨムスメでは、*FT2a* の発現が短日においても非常に低く、一方で、*FT* の抑制因子の候補としての *COL1a* 遺伝子がハロソイに比べて強発現していた。*FT* の下流で機能する

FUL のダイズオーソログについて発現解析を行った結果、トヨムスメでは、*FUL-05g* と *FUL-17g* の発現量が日長処理間で異ならなかった。これらの結果から、ハロソイの開花の光周性反応には PHYA-E1-FT 経路が開花誘導に関与するが、トヨムスメでは、*E1* が欠如しており、また *FT2a* の発現が強く抑制されていたことから、他の要因が開花誘導に関与していると考えられた。その候補として *FUL* 様遺伝子が挙げられた。

第4章では、*E1* と94%のアミノ酸相同性を示す2つのパラログ (*E1L-C1* および *E1L-G*) について、それらの機能を、リンゴ小球形潜在ウイルスを用いた PTGS により解析した。実験材料には、*E1* の効果を除くために、*E1* が欠失したトヨムスメを用いた。*E1L* のVIGSによりトヨムスメの開花が12日から15日早くなり、*E1L* の発現も有意に低下した。したがって、*E1L* も、*E1* 同様にダイズの開花早晩性を制御することが明らかとなった。*E1L* の発現低下に伴い、*FT2a* および *FT5a* の発現の上昇は認められず、一方で、*FUL* オーソログの多くの発現が有意に増加した、したがって、*E1L* は、*FUL* 様遺伝子の発現に影響を与えることによって開花を制御していると考えられた。

第5章では、ダイズの光中断に対する反応を、特徴的な発現様式を示す *E1* に着目して検討した。第3章の発現解析から、*E1* および *E1L* は、18時間の日長下では光点灯初期と消灯前に二つの発現ピークを持つ。しかし、この18時間明期の後半6時間を暗期に変えると第二の発現ピークが生起せず、さらに暗期後の明期への変換後における第一の発現ピークも誘起されなかった。一方、延長した6時間の暗期を明期に戻すと、第二の発現ピークが生起し、暗期後の第一の発現ピークも現れた。さらに、16時間暗期の光中断実験では、暗期中期に与えた光中断だけが *E1* および *E1L* の発現を誘起し、その結果 *FT2a* および *FT5a* の発現を抑制し、供試系統の開花を遅延させたが、他の時間帯に与えた光中断の *E1* および *E1L* に及ぼす効果は認められなかった。このような光中断の効果は PHYA 機能欠損型である H-*e3/e4* では認められず、光中断に対する反応には PHYA が関与していた。ダイズにおいては、暗期の適切な時期 (E1/E1L 光誘導期) に与えられた光照射が PHYA を介し

て *E1* の発現を誘導し、*FT2a* や *FT5a* の発現を抑制することによって開花が遅延することが初めて明らかとなった。一方、*E1* が欠失しているトヨムスメにおいても光中断による開花遅延が認められた。この場合、*E1L* の発現誘導により *FUL* が発現抑制されているものと考えられ、第3章および第4章の結果を踏まえ、ダイズの感光性における *E1L* の役割、ならびに *FUL*様遺伝子の開花誘導への関与が示唆された。さらに、光中断実験ならびに日長変換実験から、*E1* および *E1L* の発現は、一日の特定の時間帯 (E1/E1L 光誘導期) に光を感受することが不可欠であり、暗期に与えた光照射が光誘導期からずれると *E1* ならびに *E1L* の発現が誘導されなかった。このような暗期の特定時間帯における光照射の重要性は、光周性反応に内生リズムが関与し、内生リズムが開花に促進的に作用する親明相と阻害的に作用する親暗相に区分され、どの相に外部から光が与えられるかによって開花が決定されるとした Bünning (1936) の考え (外的符号説) によく一致した。

第6章では、これらの実験結果から得られた知見を基に、ダイズにおける開花前ならびに開花後の光周期反応を説明する遺伝子ネットワークと、その多様性を考察した。さらに、古くから指摘されてきたダイズの感光性、特に光中断に対する反応性の分子機構について、*E1* 遺伝子の発現機作から新たなモデルを提案した。このようなダイズの感光性の遺伝的多様性と分子遺伝学的機構の理解は、ダイズの適応性や収量性を改良する育種に貢献する。