



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	ダイズの硬実性に関する分子機構と進化機構に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	張, 聖珍
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第11999号
Issue Date	2015-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/60191
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Jang_SeongJin_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博士(農学)	氏名	張 聖 珍
審査担当者	主 査	教 授	阿 部 純
	副 査	教 授	貴 島 祐 治
	副 査	准教授	金 澤 章
	副 査	講 師	山 田 哲 也

学位論文題名

ダイズの硬実性に関与する分子機構と進化機構に関する研究

本論文は図 21、表 4 を含み、6 章からなる総頁数 77 の論文であり、別に参考論文 1 編が添えられている。

種子の硬実性は、マメ科植物における物理的休眠をもたらし、野生植物にとり予測不可能な環境変化に対する適応戦略の一つである。マメ科の栽培植物では、硬実性が喪失し、種播種後速やかに発芽する。ダイズ品種の多くは吸水性の種子を持つが、硬実種子を持つ品種も存在する。ダイズにおける硬実性は、高温多湿環境下における種子生存力の維持、病原菌の種子内部への感染防御、過水分下での発芽力の維持など、様々な適応的役割を果たす。一方で、硬実種子は、石豆としてダイズ種子の食品加工上の問題となる。本研究では、ダイズの硬実性に関与する主要な量的遺伝子座の責任遺伝子を特定し、その機能を検証するとともに、多様性の解析からダイズにおける種子吸水性の進化機構を考察している。

(1) 連続戻し交雑により作出した硬実性遺伝子 $qHS1$ に関するタチナガハの準同質遺伝子系統 (TA-HS) を用いて、 $qHS1$ の種皮形態に及ぼす効果を解析した。低真空走査型電子顕微鏡を用いた観察から、タチナガハでは、初期の水の侵入口である種子背面部の種皮表面に、柵状組織奥深くまで広がる亀裂が多数存在したが、TA-HSではそのような亀裂はほとんど観察されなかった。 $qHS1$ の硬実遺伝子は、軟弱なタチナガハの種皮構造を単独で強化する能力を持つことが明らかとなった。

(2) $qHS1$ のヘテロ個体後代で検出された領域内の組み換え個体について、SSRマーカーに基づくグラフ遺伝子型と後代検定により推定した $qHS1$ 遺伝子型との対応関係を解析し、 $qHS1$ の座乗候補領域を93kbのゲノム領域まで狭小化した。この領域に予測された10遺伝子のうち、2遺伝子が登熟過程の種皮で発現した。タチナガハとTA-HSの間に発現量の差が認められなかったことから、cDNA配列を解析した結果、エンド-1,4-β-グルカナーゼ遺伝子に単一塩基の非同義置換が観察された。この遺伝子の推定アミノ酸と

70%以上の類似性をもつ971個のアミノ酸配列を比較したところ、TA-HSで観察されたアミノ酸（セリン）が全体の61%を占め、タチナガハで観察されたアミノ酸（イソロイシン）はダイズに限られていた。アミノ酸置換は触媒作用に重要な触媒サブサイト-2に隣接しており、この置換が基質特異性などの酵素機能に影響を与え、種皮の脆弱性をもたらしていると推察された。塩基置換を識別するDNAマーカーを作成し、ダイズ194系統中29系統で観察された硬実種子69粒について塩基の種類を解析したところ、すべての種子が*qHSI*の硬実遺伝子を有していた。これらの結果は、*qHSI*がエンド-1,4-β-グルカナーゼ遺伝子であり、観察された非同義置換が吸水性の差をもたらすとした上記の推察を支持した。

(3) 種皮形成におけるエンド-1,4-β-グルカナーゼの機能を検証するために、種皮におけるβ-1,4-グルカンの蓄積を観察した。TA-HSの種皮キューティクルにはβ-1,4-グルカンが高度に蓄積していたが、タチナガハではそのような蓄積は認められなかった。*qHSI*の硬実遺伝子を易吸水品種カリユタカに形質転換したT2個体で実った種子には硬実種子が含まれ、それらの種皮表面の亀裂は、野生型の吸水種子に比べて減少した。以上の結果から、*qHSI*はエンド-1,4-β-グルカナーゼを支配しており、セリンを有するTA-HS由来の遺伝子が正常な機能を有することが示された。

(4) アジア各地から収集されたダイズ1,554系統とツルマメ428系統について*qHSI*の塩基多型を調査した。調査したツルマメは全て硬実型の塩基を示したが、ダイズでは95.8%にあたる1,498系統が吸水型の塩基を示した。硬実型の塩基を有するダイズ系統は主に中国南部から東南アジアや南アジアで観察された。*qHSI*の遺伝子領域3,344塩基の配列をダイズ25系統ならびにツルマメ14系統について解析した。全体で、14個のSNPが検出され、供試系統は17のハプロタイプに分類することができた。ダイズでは11種類のハプロタイプが観察され、これらの内3種が吸水型の塩基をもつハプロタイプであった。一方、硬実型のハプロタイプは8種類存在し、ダイズに存在する硬実品種は、異なる*qHSI*ハプロタイプに由来することが明らかとなった。

以上の成果は、ダイズにおける硬実性の責任遺伝子を特定し、その機能の解析を通して、硬実性の分子生物学的な基盤や、ダイズにおける種子の吸水性に関する進化機構をはじめて明らかにした点で、学術上高く評価できる。よって審査員一同は、張 聖珍氏が博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認めた。