



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Molecular-Genetic Study on Soybean Maturity Gene E9 and its Role on Flowering [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	赵, 晨
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第12252号
Issue Date	2016-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/61596
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Zhao_Chen_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	Zhao Chen
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

Molecular-Genetic Study on Soybean Maturity Gene *E9* and its Role on Flowering

(ダイズの感光性遺伝子 *E9* とその開花に及ぼす役割に関する分子遺伝学的研究)

本論文は図 10 および表 4 を含む 6 章からなる総頁数 84 の英語論文であり、別に参考論文 2 編が添えられている。

子実作物にとり開花の制御は適応性や収量性を規定する重要な因子である。ダイズは短日植物として知られているが、幅広い緯度環境の下で栽培される広域適応性の高い作物である。この広域適応性は、開花に関与する数多くの遺伝子座の遺伝的多様性の産物である。これまでに 10 個の主働遺伝子座と数多くの量的遺伝子座が開花に関与することが報告されてきた。これらの内、4 個の遺伝子座 (*E1* から *E4*) の責任遺伝子が特定されており、特に高緯度適応に不可欠な感光性の低下は、これらの遺伝子座に独立かつ繰り返し生じた機能欠損遺伝子の組み合わせによってもたらされている。本研究では、ダイズの開花早晩性を規定する *E9* 遺伝子に焦点を当て、その責任遺伝子を同定し、劣性対立遺伝子 *e9* がもたらす晩生化の分子基盤を明らかにし、ダイズの高緯度環境での適応機作ならびに低緯度地域での短日環境におけるその有用性を考察している。

(1) 北海道の早生ダイズ品種「トヨムスメ」とカナダの早生品種「ハロソイ」との交雑後代では開花の早さに超越分離が認められる。その変異の主な部分は、両親間で遺伝子型が異なる *E1* 座の分離に起因していたが、それとは独立に分離する異なる遺伝子の分離も認められた。DNA マーカーを用いた連鎖分析の結果、*E9* 座と連鎖する DNA マーカーで開花期との間に有意な連鎖が見いだされ、*E9* 座が分離していることが示された。そこで、F₃ 世代のヘテロ個体の後代から *E9* 座近傍の DNA マーカー間に組換えが生じている個体を選抜し、後代検定より推定した *E9* 座の遺伝子型と領域内の DNA マーカー解析から構築したグラフ遺伝子型との比較から、*E9* 座の座乗領域を約 40kb のゲノム領域に特定した。ダイズゲノムシーケンスデータベースには当該領域には 3 個の遺伝子が予測されており、そのうち一つがダイズのフロリゲン遺伝子である *FT2a* 遺伝子であった。

(2) *FT2a*のコード配列には親系統間に多型は観察されず、10個体の異なるF₂個体に由来するF₃世代の両ホモ型群間で*FT2a*の発現量を比較した所、いずれの家系においてもトヨムスメ型ホモ個体群で*FT2a*の発現量が著しく低下した。低発現の要因を明らかにするために親系統を含む5系統の*FT2a*のプロモーター、非翻訳領域ならびにイントロンの塩基配列を決定した。その結果、プロモーター領域の41塩基の挿入/欠失変異、5'非翻訳領域の10塩基の挿入/欠失ならびに第一イントロンのレトロトランスポゾンの挿入を含む計31個のDNA多型が系統間に観察された。トヨムスメの低発現の原因となるDNA多型を特定するために、観察された多型の組み合わせで異なる*FT2a*配列を有する準同質遺伝子系統ならびに非感光性系統について*FT2a*の発現量を解析した。その結果、第一イントロンに挿入されたレトロトランスポゾンが原因であることが明らかとなった。このレトロトランスポゾンは全長が約6.2Kbであり、北海道の非感光性ダイズ品種のフィトクロームAをコードする*E4*座の劣性遺伝子*e4*に挿入された*SORE-1*と高い相同性を示した。

(3) イントロンに挿入されたレトロトランスポゾンが*FT2a*の発現を抑制する機構を、(1) 一次転写産物のスプライシングの阻害ならびに (2) メチル化による転写型または転写後遺伝子サイレンシングの可能性から検討した。第一イントロンならびにレトロトランスポゾン内部に設計したプライマーを用いてRT-PCRを行ったところ、レトロトランスポゾンは一次転写産物から正常にスプライトアウトされ、正常な転写産物のみが観察されたことから、スプライシングの過程に障害は生じていなかった。一方、メチル化感受性酵素であるMcrBCを用いた解析の結果、レトロトランスポゾンは高度にメチル化されていることが明らかとなった。また、ヘテロ個体の両配列の転写解析から、低発現は転写型遺伝子サイレンシングに原因することが分かった。これらの結果から、メチル化されたレトロトランスポゾンが*FT2a*の発現を阻害していると考えられた。

(4) 北海道ならびに中国東北地方のダイズ早生品種34系統について、*FT2a*内のレトロトランスポゾンを検出するDNAマーカーを用いてその地理的分布を調査した。レトロトランスポゾンが挿入された*e9*遺伝子は、主にサハリンならびに北海道北部の在来種で観察され、また、北海道で育種された最近のダイズ品種にも広く認められた。すなわち、*e9*は北海道北部からサハリンにかけて栽培された在来種に生じた地域固有の遺伝子であり、極早生性の遺伝背景の下で、栄養生長期間を確保する遺伝子として選抜され、現在の北海道ダイズ育種においても積極的に利用されていることが明らかとなった。

以上の結果に基づき、Zhao Chenは、*e9*遺伝子が、北海道のダイズ育種に積極的に利用されている*E1*欠失遺伝子*e1-nl*との組み合わせの下で、*e1-nl*による早期開花とその結果としての低収性を、栄養生長期間を維持する働きによって相殺し、収量性の向上に貢献していること、さらに、低緯度地域の短日環境下に必須な長期幼若性遺伝子としても有用であることを指摘している。これらの成果は、ダイズにおける適応性の拡充に関する新たな知見を与えた点で学術上高く評価できる。よって審査員一同は、Zhao Chen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。