HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Gene network and molecular diversity of a FLOWERING LOCUS T orthologue, FT5a, in the control of flowering and stem termination in soybean [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	竹島, 亮馬
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第12707号
Issue Date	2017-03-23
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/65658
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Ryoma_Takeshima_abstract.pdf, 論文内容の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

博士の専攻分野の名称　博　士（農学）　　氏名　竹島　亮馬

学 位 論 文 題 名

Gene network and molecular diversity of a *FLOWERING LOCUS T* orthologue, *FT5a*, in the control of flowering and stem termination in soybean

(ダイズの開花および伸育性の制御における *FLOWERING LOCUS T* オルソログ *FT5a* の遺伝子ネットワークと分子的多様性)

ダイズ (*Glycine max* (L.) Merr.) は世界で広く栽培される作物の一つであり、その子実収量を栽培地域に応じて最大化させるには、個々の地域における開花や開花後の栄養および生殖生長を制御する分子機構の理解が欠かせない。ダイズの開花には、シロイヌナズナの *FLOWERING LOCUS T* (*FT*) 遺伝子のオーソログである *FT2a* と *FT5a* が関与し、それらの転写量は、抑制因子である *E1~E4* 座の対立遺伝子の組み合わせで制御されていることが知られている。しかしダイズ品種で観察される開花期の変異をこれら 4 遺伝子座の対立遺伝子的変異で説明するには不十分であり、開花および開花後の生殖成長の全体像を理解するには、さらなる開花遺伝子の同定と遺伝子間の相互作用の理解が必要である。本研究では、早生ダイズ品種に見出された低感光性の責任遺伝子を同定すること、ならびに、開花および開花後の生長様式に関わる遺伝子ネットワークと二つの *FT* 遺伝子の役割を明らかにすることを目的とした。得られた成果は以下のように要約される。

1. 長日条件下において早期開花をもたらす QTL の責任遺伝子の同定

短日植物であるダイズにとり感光性の低下もしくは欠損を引き起こす責任遺伝子の同定は、高緯度地域への適応性の拡大ならびに多収化育種にとり重要である。本研究では、二組の早生ダイズ系統間の交雑に由来する分離集団を用いて、長日条件下で早期開花をもたらす量的形質遺伝子座 (QTL) の責任遺伝子を同定した。

QTL 解析により、両組み合わせともに開花期に関して効果の高い QTL が J 連鎖群の同じ位置に座乗することが分かった。続いて、ファインマッピングにより、QTL の座乗領域を 107 kb まで狭小化した。公開されているダイズのゲノム情報を基に狭小化された領域内に存在する遺伝子を予測した結果、ダイズのフロリゲン遺伝子である *FT5a* が存在することが分かった。そこで、親系統の *FT5a* ゲノム領域の塩基配列を解析したところ、早生型親と晩生型親との間に、プロモーター領域および 3′非翻訳領域に大きな挿入欠損多型を含む 15 の塩基多型が存在することが分かった。次に、*FT5a* の塩基多型を検出する DNA マーカーを作成し、早生型親が持つ多型を early flowering (*ef*) アレル、晩生型親が持つ多型を late flowering (*lf*) アレルとして、*ef* および *lf* アレルに関する準同質遺伝子系統 (NIL) を作成した。NIL 間での開花期および *FT5a* の転写量を解析した結果、*ef* アレルを持つ NIL は、生育段階を通して *FT5a* の転写量が *lf* アレルを持つ NIL より高く、早期に開花することが分かった。さらに、ダイズの開花期に最も強い効果を持つ *E1* の背景下においても、*ef* アレルは早生化をもたらした。世界のダイズ遺伝資源について、DNA マーカー解析ならびに SNP-calling 解析を行ったところ、*ef* アレルは既存の栽培品種ではほとんど利用されていない稀な

遺伝子であることが分かった。以上の結果から、本研究で見出された J 連鎖群上の開花期に関する QTL の責任遺伝子は *FT5a* であり、*ef* アレルの早生化は、*FT5a* のゲノム領域の多型が引き起こす *FT5a* の転写量の増加に原因すると結論付けた。また、*ef* アレルは既存の栽培品種にほとんど利用されておらず、かつ、どの *E1* の遺伝的背景下でも早生化を引き起こすことから、特に高緯度地域で必要とされる早生化を目的とした育種への利用が期待できる。

2. ダイズ *FT* オルソログの機能分化および遺伝子ネットワークの解析

ダイズのフロリゲン遺伝子 *FT2a* と *FT5a* の転写量は、マメ科特有の転写因子 *E1* により抑制される。*E1* の転写量は 2 つのフィトクロム A (phyA) 遺伝子によって制御されており、この phyA-*E1* 経路がダイズの開花の光周性に最も大きな効果を持つ。しかし、それらの下流で働く遺伝子ネットワークについては十分に理解されていない。本研究では、形質転換またはウイルスベクターを用いた *E1*、*FT2a* および *FT5a* の過剰発現個体を用いて、これら遺伝子の下流で働く遺伝子ネットワークならびに開花後の生殖生長における *FT2a* および *FT5a* の役割を解析した。

E1 過剰発現個体と野生型 (WT) を用いたトランスクリプトーム解析 (RNA-sequencing) から、*E1* の過剰発現が、*FT2a* や *FT5a* だけではなく多くの開花遺伝子の転写量を変動させることが分かった。特に変動の大きかった遺伝子群の発現様式を *FT2a* および *FT5a* の過剰発現個体と WT で比較したところ、葉では、ほぼ全ての遺伝子の転写量が *FT2a* もしくは *FT5a* の過剰発現によっても影響され、*E1* は、*FT2a* および *FT5a* の転写量を直接抑えることで、下流の遺伝子発現を制御していると考えられた。また、*FT2a* と *FT5a* の過剰発現個体では、同程度の早生化が観察されたが、茎頂の伸育様式が両者で異なった。*FT2a* 過剰発現個体では、無限伸育型である WT 同様に、開花後もしばらくの間茎頂は栄養生長を続けたが、*FT5a* 過剰発現個体では開花後ただちに茎頂の相転換が生じ、頂生花が形成された。そこで、茎頂における伸育性関連遺伝子の発現を解析したところ、無限伸育性遺伝子 *Dt1* とその抑制因子である *Dt2* の制御機構が *FT2a* 過剰発現個体と *FT5a* 過剰発現個体の間で異なり、後者では *Dt2* の転写が誘導され *Dt1* の転写が強く抑制されていた。以上の結果から、*FT2a* と *FT5a* は開花誘導に関しては重複した機能を持つが、茎頂では異なる遺伝子ネットワークを通して開花後の茎頂の相転換を制御していると結論付けた。また、茎頂に及ぼす効果に加えて、両 *FT* 遺伝子は種子の発育を促進する効果を有することが明らかになった。

本研究では、長日条件下における開花早晩性に *FT5a* の転写量が異なる新規アレルが関与すること、*FT5a* は、開花のみならず、*FT2a* とは異なる遺伝子ネットワークを通して開花後の伸育性の制御に密接に関わること、また、両 *FT* 遺伝子が種子の発育にも関与することを、初めて明らかにした。これらの知見は、高緯度地域における早生ダイズ品種の育種や、伸育性遺伝子を組み合わせた多収ダイズ品種の育種に貢献するものと期待される。