



Title	Molecular-Genetic Study on a Novel Photoperiod-Insensitive Gene in Soybean [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	朱, 江慧
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第13593号
Issue Date	2019-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/74381
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Zhu_Jianghui_abstract.pdf, 論文内容の要旨



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 朱 江慧

学 位 論 文 題 名

Molecular-Genetic Study on a Novel Photoperiod-Insensitive Gene in Soybean

（ダイズにおける新規の非感光性遺伝子に関する分子遺伝学的研究）

ダイズ (*Glycin max* (L.) Merr.) は油糧ならびに飼料として世界で広く栽培される作物であり、またタンパク質供給源としてアジア諸国の食生活にも欠かせない食材である。北海道は国内大豆の主産地であり、その生産量は平成 29 年度で全国生産量の約 4 割を占めている。しかし、北海道のような高緯度地域では、生育初期から日長が長く推移し、また栽培可能な無霜期間が短いことから、短日植物であるダイズを栽培するには長日条件でも開花が抑制されない感光性の低下または消失が必要となる。ダイズの開花には、フロリゲンとして特定されたシロイヌナズナの *FLOWERING LOCUS T* (*FT*) 遺伝子のオルソログである *FT2a* と *FT5a* が関与し、それらの遺伝子発現が光周期開花経路で作用する *E1*、*E2*、*E3* および *E4* の制御下にあることが知られている。高緯度地域で栽培されるダイズ品種の多くは、これら 4 遺伝子の機能欠損対立遺伝子の組み合わせにより低または非感光性を獲得しているが、これらの遺伝子座の変異だけでは説明されない非感光性をもつ品種が存在する。ダイズの高緯度環境への適応性の全体像を理解するには、非感光性に関わる新規の遺伝子の特定およびその機能解析が必要である。本研究では、極東ロシアのダイズ品種に見出された非感光性の責任遺伝子を特定し、その開花における作用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. 新規非感光性遺伝子の特定および機能解析

極東ロシアから導入されたダイズ品種 *Zeika* ならびに *Yubileinaya* は、前述の 4 遺伝子に関して感光性の遺伝子型組み合わせ (*e1-as/e2/e3/E4*) を持つが、人為的に補光して日長を延長した人為的長日条件下においても開花が遅延しない非感光性をもつ。これらの品種と同じ遺伝子型を持ちながら感光性を示すカナダ品種 *Harosoy* の *e3* に関する準同質遺伝子系統 (*He3*) との交雑分離集団を用いてこれらの非感光性の関与遺伝機構を解析した。DNA マーカー解析から非感光性に関与する遺伝子を第 4 染色体上に見出し、ファインマッピングによりその座乗領域を偏動原体領域にある 842kb にまで狭小化した。ダイズゲノムデータベースを検索したところ、当該領域には 6 遺伝子が予測されていた。それらのうち葉組織で発現する 3 遺伝子の塩基配列を両親で比較した結果、*E1* の同祖遺伝子である *E1-Like-b* (*E1Lb*) のコード領域に非感光性系統で一塩基が欠失しており、非感光性系統の *E1Lb* 遺伝子は、未成熟終止コドンによる不完全なタンパク質をコードしていた。この機能欠損遺伝子を *e1lb* と命名した。

E1 タンパク質は、B3 様 DNA 結合領域を持ち、*FT2a* および *FT5a* の発現を抑制する転写因子であると考えられている。He3 および Harosoy と Zeika の交雑後代から、フィトクローム A をコードする *E3* および *E4* に関する 2 つの遺伝子型 (*e3/E4* および *E3/E4*) の各々について *E1Lb* と *e1lb* に関する準同質遺伝子系統を作出し、20 時間日長条件における開花様式と *FT2a* および *FT5a* の発現様式を解析した。いずれの遺伝子型においても、*e1lb* 系統は *E1Lb* 系統に比べて開花が約 1 週間から 2 週間ほど早生化し、*FT2a* および *FT5a* の発現量が有意に増加した。これらの結果ならびに既往の *E1-Like* 遺伝子に関する機能解析の結果から、ロシア品種の非感光性には *E1Lb* の機能欠損が関与し、*E1Lb* による *FT2a* および *FT5a* の発現抑制効果が消失することによって非感光性がもたらされると考えられた。また、遠赤色光の豊富な長日条件では *E4* により開花が抑制されるが、その効果は *E1Lb* または *E1* の機能欠損により打ち消されることが明らかとなった。酵母ツーハイブリッド法を用いてタンパク質間の相互作用を解析した結果、*E1Lb* と *E1* およびもう一つのホモログである *E1La* の間に相互作用は検出されなかった。これらの結果から、*E1Lb* を含む *E1* ファミリー遺伝子は、長日条件下において *FT2a* および *FT5a* の発現を互い独立に抑制し、ダイズの開花を制御していると考えられた。

2. *E1* 様遺伝子の分子的多様性

Zeika ならびに Yubileinaya で発見された *E1Lb* の一塩基欠失を検出する DNA マーカーを作出し、世界各地の非感光性品種についてその多型を調べた。その結果、*e1lb* はロシア品種に特異的な対立遺伝子であった。極東ロシアで採集された野生ダイズ 7 系統についても同様に DNA マーカー解析を行ったが、*e1lb* は見いだされなかった。塩基配列を解析した結果、これらの野生系統には 3'非翻訳領域に一塩基多型が存在したが、コード配列に新たな多型は観察されなかった。

E1Lb のホモログである *E1La* の塩基配列を非感光性ダイズ品種 15 系統およびロシアの野生ダイズ 8 系統について解析した。ダイズ品種には一つの同義置換と 3'非翻訳領域に一つの塩基置換が存在した。一方、野生ダイズでは、ダイズ品種で観察された 2 つの多型に加え、一つの非同義置換が観察された。タンパク質構造解析の結果、アミノ酸置換は B3 様 DNA 結合領域の α ヘリックス 2 で生じており、隣接したアミノ酸間の水素結合様式が異なることによってヘリックス構造に変化をもたらしていた。したがって、この非同義置換は *E1La* タンパク質の DNA 結合能力に影響を与えている可能性がある。

本研究では、ダイズの非感光性に関わる新規の変異体として *E1* の同祖遺伝子である *E1Lb* の機能欠損対立遺伝子 *e1lb* を特定した。この変異体は、ロシアの非感光性品種にのみ観察された稀な変異体であり、高緯度地域における更なる早生化を目指したダイズ育種に貢献すると期待される。*E1* ファミリー遺伝子は、ダイズに特異的な開花に関わる転写因子とされるが、それらの機能については十分理解されていない。本研究で見出された *e1lb* 遺伝子、さらには *E1La* のアミノ酸置換変異体は、*E1* ファミリー遺伝子の機能を明らかにする遺伝的変異体として有用である。