HOKKAIDO UNIVERSITY

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_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

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　朱　江慧

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 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)

本論文は図 17 および表 1 を含む 5 章からなる総頁数 82 の英語論文であり、別に参考論文 1 編が添えられている。

ダイズは、赤道直下から北緯 50 度を超える地域まで栽培される広域適応性の高い作物である。ダイズは元来短日植物であり、高緯度地域の長日条件下で開花登熟するには感光性を低下または消失する必要がある。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 LOCUST*（*FT*）遺伝子のオルソログ（*FT2a* および *FT5a*）が関与し、それらの発現には光周期開花経路で作用する 4 遺伝子（*E1*、*E2*、*E3* および *E4*）が関わる。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品種が存在する。本研究では、極東ロシアのダイズ品種に見出された新規の非感光性遺伝子が *E1* のホモログである *E1Lb* の機能欠損変異体であること、ならびに、*E1* と二つのホモログ（*E1La* および *E1Lb*）の間のタンパク質間相互作用と分子的多様性を明らかにしている。

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早生品種 Zeika は、上記の 4 遺伝子に関して感光性の遺伝子型（*e1-as*/*e2*/*e3*/*E4*）を持つにも関わらず、白熱灯の補光により自然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の特性を有する。Zeika の非感光性に関わる分子遺伝機構を検定交雑分離集団を用いて解析した。DNA マーカーとの連関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には当該領域に 6 遺伝子が予測されており、それらのうち葉組織で発現する 3 遺

伝子の塩基配列解析を行い、その一つである *E1Lb* のコード領域に Zeika で一塩基の欠失が生じていることを明らかにした。*E1* は、*FT2a* や *FT5a* の発現を抑制す B3 様 DNA 結合領域を持つ転写因子とされ、一方 *E1Lb* は *E1* 同様に *FT* の発現を抑制して開花を遅延させる。これら既知の知見を基に、新規の非感光性遺伝子は、フレームシフトにより未成熟終止コドンが生じた *E1Lb* の機能欠損遺伝子（*e1lb*）であると結論づけた。

交雑後代から *E1Lb* および *e1lb* に関する準同質遺伝子系統を作出し、長日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。*e1lb* 系統では *E1Lb* 系統に比べて *FT2a* および *FT5a* の発現量が有意に増加し、開花が約 1 週間から 2 週間ほど早生化した。*e1lb* の開花に及ぼす効果は、特に遠赤色光の豊富な長日条件では、*E1* の機能欠損遺伝子の効果とほぼ等しく、*E1* および *E1Lb* が同じような効果を持って開花を抑制することを明らかにした。酵母ツーハイブリッド解析の結果、E1, E1Lb ならびに E1La の間にタンパク質間の相互作用が認められず、これらの遺伝子が互いに独立に *FT2a* および *FT5a* の発現を制御していると結論づけた。

2.*E1* 様遺伝子の分子的多様性

e1lb の一塩基欠失を検出する DNA マーカーを用いて世界各地の非感光性品種についてその多型を解析し、*e1lb* がロシア品種に特有の変異体であることを明らかにした。さらに、非感光性ダイズ品種ならびにロシアの野生ダイズについて *E1Lb* および *E1La* の塩基配列解析を行い、野生ダイズの *E1La* の塩基配列に一つの非同義置換を見出した。タンパク質構造解析を行い、このアミノ酸置換が B3 様 DNA 結合領域の α-ヘリックスに位置し、隣接するアミノ酸間の水素結合様式を変えて α-ヘリックスの構造に変化をもたらしていると推察した。*E1La* に見いだされた新規の変異体は、E1La タンパク質の DNA 結合機能を損なう新たな非感光性遺伝子になりうる可能性がある。

以上の結果を基に、朱　江慧は、ロシア品種に見いだされた新規の非感光性遺伝子*e1lb*が更なる早生化を目指した高緯度地域のダイズ育種に貢献すること、ならびに、*e1lb*および*E1La*の非同義置換変異体がダイズの開花にとり最も重要な*E1*およびそのホモログの機能を理解する上での遺伝的変異体として有用であると考察している。これらの成果は、ダイズにおける高緯度地域への適応性の拡充をもたらす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、朱　江慧が博士（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。