HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Molecular Genetic Study on Tocopherol Synthesis in Soybean Seeds [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	朴, 哲旺
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第13930号
Issue Date	2020-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/77981
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Park_cheol_woo_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　朴　哲旰

審査担当者			
	主 査	教 授	阿 部 純
	副 査	教 授	久 保 友 彦
	副 査	講 師	山 田 哲 也
	副 査	助 教	Maria Stefanie Dwiyanti

学位論文題名

Molecular Genetic Study on Tocopherol Synthesis in Soybean Seeds
(ダイズ種子におけるトコフェロール生合成に関する分子遺伝学的研究)

本論文は図 28 および表 7 を含む 5 章からなる総頁数 79 の英語論文であり、別に参考論文 1 編が添えられている。

トコフェロールはビタミン E として知られる脂溶性の抗酸化物質であり、がんや動脈硬化などの生活習慣病や循環器系疾患を予防する生理的な機能を持つ。トコフェロールは 4 種類の同族体（α、β、γ および δ）からなり、これらのうち α-トコフェロールが最も高いビタミン E 活性をもつ。ダイズ種子に含まれるトコフェロールは主に γ 型からなり、α 型は通常 10%未満にすぎない。多様なダイズ品種を用いた解析から、α-トコフェロール高含有品種が見出され、それに関わる量的形質遺伝子座（QTL）が特定されている。一方、野生ダイズの中にも α-トコフェロール高含有系統が存在する。本研究では、野生ダイズに見いだされた α-トコフェロール高含有性の分子機構ならびにトコフェロール生合成の温度反応の変異と *γ-TMT* 遺伝子の DNA 多型との関連を明らかにし、ダイズにおける高 α トコフェロール育種について考察している。得られた結果は以下のように要約される。

1. 野生ダイズの α-トコフェロール高含有性に関する QTL 解析

α-トコフェロール高含有野生系統（B04009）と低含有栽培系統（TK780）との交雑に由来する組換え近交系統を用いて、野生ダイズの高含有性に関与する QTL 解析を行った。連鎖地図の構築には 7,710 個の単一塩基多型マーカーを用い、種子のトコフェロールは 2 環境条件で評価した。その結果、いずれの環境においても染色体 9、11 および 12 に効果の大きな QTL が見出された。染色体 9 および 12 の QTL では野生系統の対立遺伝子が、一方、染色体 11 の QTL では栽培系統の対立遺伝子が、それぞれ高含有性をもたらした。ダイズゲノムシークエンス情報を探索した結果、染色体 9 および 12 の QTL 領域には *γTMT3* および縦列連鎖する *γTMT1* ならびに *γTMT2* 遺伝子が存在した。一方、

染色体 11 の QTL 領域には、トコフェロール生合成に関与する既知の遺伝子は存在せず、種子で発現する転写因子および機能が特定されていないメチルトランスフェラーゼ遺伝子が存在した。

2. γ-トコフェロールメチルトランスフェラーゼ遺伝子の発現および塩基配列の比較

TK780 および B04009 について、20℃および 30℃の定温条件下で登熟した種子のトコフェロール組成を解析した。α-トコフェロール含有率は、両系統ともに温度の上昇により増加したが、両温度条件ともに含有率は B04009 で高く、また温度の上昇に伴う含有率の増加も B04009 で顕著であった。登熟過程での未熟子葉最大期における子葉の *γTMT* 遺伝子の発現を解析した結果、両温度条件ともに *γTMT3* 遺伝子の発現は B04009 で高く、また温度の上昇に伴い *γTMT2* の遺伝子発現が B04009 で大きく増加した。したがって、B04009 と TK780 の間に見られた α-トコフェロール含有率ならびにその温度反応の差異は、*γTMT3* および *γTMT2* の遺伝子発現様式の差異と対応していた。次世代シークエンス解析より得られたリシークエンスデータの解析から、両系統の *γTMT* 遺伝子には、非同義置換や種子特異的なシスエレメントに変化をもたらす多くの DNA 多型が存在することが明かとなった。

3. トコフェロール生合成の温度反応と DNA 多型の連関性

栽培ダイズ 16 系統および野生ダイズ 9 系統について、リシークエンスデータを基に *γTMT* 遺伝子の DNA 多型を特定し、検出された多型と 20℃および 30℃で登熟した種子の α-トコフェロール含有率の連関性を解析した。その結果、*γTMT1* では 1 ヵ所、*γTMT2* では 2 ヵ所、*γTMT3* では 4 ヵ所の塩基多型が α-トコフェロール含有率と高い相関関係を示した。これらの塩基置換の多くはシスエレメントの変化を伴っていた。

以上の結果を基に、朴　哲旰は、野生ダイズ系統 B04009 と TK780 の交雑で分離した α-トコフェロール含有率の変異には、*γTMT1* および *γTMT2* と *γTMT3* に対応する 2 個の QTL と、既知のトコフェロール生合成遺伝子が存在しない QTL が関与することを明らかにした。これらのうち、2 個の QTL は、従来の報告にない新規の QTL であり、ダイズ品種の α-トコフェロール高含有性育種に利用することができると考察している。また、栽培あ及び野生ダイズ系統間の α-トコフェロール含有の変異とシスエレメントの変化を伴う *γTMT* 遺伝子プロモーター領域の DNA 多型の間に高い連関関係が見出され、温度反応と DNA 多型との連関性に関する知見は、ダイズにおけるトコフェロール生合成の分子機構の理解に貢献すると期待される。これらの成果は、ダイズの適応性ならびに収量性の改良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、朴　哲旰が博士（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。