HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Molecular Genetic Study on a Nobel Early Flowering Mutant That Mitigates Floral Repression by Cool Temperature in Soybean [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	張, 静語
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第14207号
Issue Date	2020-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/79561
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Zhang_Jingyu_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　張　静語

学位論文題名

Molecular Genetic Study on a Nobel Early Flowering Mutant That Mitigates Floral Repression by Cool Temperature in Soybean

(低温による開花抑制を緩和するダイズの新規早生変異体に関する分子遺伝学的研究)

ダイズ品種間に見られる開花早晩性の変異は主に感光性の変異に起因する。これまでに感光性に関わる数多くの主働遺伝子や量的形質遺伝子座が特定されてきた。ダイズの開花には、日長に加えて温度も関与するが、開花の温度反応に関わる遺伝子は明らかにされていない。遺伝的制御機構の解析には遺伝的変異の存在が欠かせないが、品種間に存在する自然変異に加えて、人為突然変異体が、直接品種改良に利用されるだけでなく、農業形質の遺伝的制御機構を理解する遺伝的素材として利用されてきた。ダイズ品種「農林 2 号」の重イオンビーム照射後代から開花特性や種子成分に関する様々な突然変異体が見出されている。本研究では、その中の早生突然変異体に関する分子遺伝学的機構を明らかにすることを目的として、交雑分離集団における遺伝解析、ファインマッピングとリシークエンス分析を用いた原因 DNA 多型の特定、準同質遺伝子系統を用いた開花特性ならびに開花関連遺伝子の発現解析を行った。また、原因因子として特定されたシロイヌナズナの開花遺伝子 *CONSTANS* のダイズオルソログの分子多様性を解析した。得られた結果は以下のように要約される。

1. 新規早生突然変異遺伝子の責任 DNA 多型の特定

ダイズ品種「農林 2 号」の重イオンビーム照射後代で分離した早生突然変異系統 N2-ef1 を実験に供試した。N2-ef1 と同じ熟期遺伝子型（*E1*/*e2*/*e3*/*E4*）を持つ品種「十勝長葉」との交雑後代を用いて、分離した開花早晩性と 111 個の SSR 標識との連関解析を行った。その結果、5 個の SSR 標識に有意な連関関係が認められた。それらのうち、N2-ef1 由来の遺伝子が早生性を示し、かつ既往の報告にない第 19 染色体の SSR 標識と連鎖する遺伝子を N2-ef1 由来の早生突然変異遺伝子 *ef1* の候補とした。後代での候補遺伝子の分離家系の中から、後代検定の結果、開花早晩性が単因子分離した家系について、ファインマッピングから *ef1* の座乗領域を約 600 kb の領域に狭小化した。さらに、親系統である「農林 2 号」と「十勝長葉」ならびに N2-ef1 のリシークエンスを比較した結果、座乗領域に N2-ef1 において約 214 kb の欠失が見出された。この領域には 11 個の遺伝子がアノテーションされており、その中にシロイヌナズナの開花遺伝子 *CONSTANS* のオルソログ *COL2b* が存在した。狭小化した領

域内にはもう一つの開花関連遺伝子が存在したが、この遺伝子はリファレンスゲノムでは機能欠損遺伝子であり、「農林 2 号」と N2-ef 1 も同じ塩基配列を有していた。これらの結果から、*ef1* は 214 kb の欠失に起因し、*COL2b* がその候補遺伝子であると結論付けた。

2. *ef1* 遺伝子の機能解析

解析した F_5 分離家系の 2 個体の後代で分離した早生型ホモ個体および晩生型ホモ個体をそれぞれ *ef1* と野生型遺伝子に関する 2 組の準同質遺伝子系統（NIL）とし、これらを異なる日長条件（25℃の温度条件下で 12 時間、15 時間、18 時間日長）および異なる温度条件（16 時間日長下で 18℃、25℃、32℃）で栽培して *ef1* の開花特性を評価した。その結果、25℃条件ではいずれの日長条件においても NIL 間の開花日の差異は小さく、一方、16 時間日長の 18℃条件下では、25℃および 32℃条件に比べて NIL 間の開花日の差異が拡大し、野生型系統に比べて *ef1* 系統で約 10 日から 2 週間早生化した。開花誘導に関わるシロイヌナズナの *FLOWERING LOCUS T* のダイズオルソログである *FT2a* および *FT5a* の発現を解析したところ、25℃に比べて 18℃では両遺伝子とも発現が強く抑制されたが、*ef1* 系統では抑制程度が緩和された。さらに、*COL2b* ならびに *FT* の抑制因子である *E1* 遺伝子の発現を解析した結果、野生型系統では低温により *COL2b* の発現が上昇し、同時に *E1* の発現が誘導されたが、*COL2b* の欠失した *ef1* 系統では低温による *E1* の発現誘導は観察されなかった。以上の結果より、早生突然変異遺伝子 *ef1* は、ダイズにおける開花の感温性、特に低温抑制に関わる遺伝子であり、低温による開花抑制を緩和して早生化する遺伝子と推察された。

3. *CONSTANS* 様遺伝子の分子多様性の解析

ef1 ゲノム領域には、既往の研究において開花遺伝子の存在は報告されていない。そこで、*COL2b* の自然変異を明らかにする目的で、データベースに登録されている栽培ダイズ 450 系統および野生ダイズ 62 系統のリシークエンスデータを用いて、*COL2b* および相同性の高い 3 個の *COL* 遺伝子（*COL1a*, *COL1b* および *COL2a*）の塩基多型を調査した。その結果、*COL1a* を除き、アミノ酸置換を引き起こす塩基多型は主に野生系統で検出され、解析した栽培系統のほとんど全てがリファレンスゲノムと同じ配列を有していた。既往の研究において *ef1* ゲノム領域に開花に関連する遺伝子ならびに塩基多型が検出されなかった理由は栽培系統における *COL2b* の低い塩基多様性であろう。

以上の結果から、重イオンビーム照射により誘発された早生 *ef1* 変異は、主に冷涼な気温に対する開花応答に関与し、*COL2b* の欠失に起因すると推察された。*COL2b* は、ダイズの主要な開花抑制因子 *E1* を正に制御し、冷涼環境下で開花を抑制すると考えられる。新規早生変異体 *ef1* は、ダイズの冷涼環境への適応性を向上させる育種研究に貢献すると同時に、ダイズにおける開花温度制御の分子機構をよりよく理解する新たな遺伝子源として有用である。