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_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　張　静語

審査担当者	主 査	教　授	金　澤　　章
	副 査	教　授	貴　島　祐　治
	副 査	名誉教授	阿　部　　純
	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 a Novel 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）

本論文は図 20 および表 2 を含む 5 章からなる総頁数 129 の英語論文であり、別に参考論文 1 編が添えられている。

ダイズ品種間に見られる開花早晩性の差異は主に感光性に関する自然突然変異に起因する。これまで感光性に関わる数多くの遺伝子が特定されてきたが、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。開花を含む農業形質の遺伝的制御機構の解析には主に品種間の差異が利用されてきたが、人為的に誘発した人為突然変異体の利用も有用である。本学位論文では、重イオンビーム照射により誘発された新規の早生突然変異を取り上げ、交雑分離集団における遺伝解析ならびにファインマッピングとリシークエンス分析から原因 DNA 多型を特定している。また、関与遺伝子の開花特性ならびに開花関連遺伝子の発現解析からその機能を特徴付けるとともに、その分子多様性を評価している。得られた結果を基に、ダイズにおける開花の低温応答に関する分子遺伝学的機構ならびに冷涼環境に対する適応性育種研究における有用性を考察している。

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 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、SSR 標識との連関解析により、新規の早生突然変異遺伝子 *efl* が第 19 染色体の領域に位置することを明らかにした。さらに後代の分離家系の解析から、*efl* の座乗領域を約 600 kb のゲノム領域に狭小化した。親系統である「農林 2 号」と「十勝長葉」ならびに

N2-ef1 のリシークエンスデータを基に *ef1* の座乗領域の塩基配列を比較した。その結果、N2-ef1 において 11 個の遺伝子を含む約 214 kb の欠失が生じていた。欠失以外には、領域内の他の遺伝子に機能を変えるような塩基多型が見いだされなかったことから、*ef1* は 214 kb の欠失に起因すると結論付けた。欠失した遺伝子の中に、シロイヌナズナの開花遺伝子 *CONSTANS*（*CO*）のオルソログ *COL2b* が存在した。これらの結果から、*COL2b* の欠失が早生突然変異の原因と結論付けた。

2. *ef1* 遺伝子の機能解析

早生遺伝子 *ef1* に関する 2 組の準同質遺伝子系統（NIL）を作出し、異なる日長条件ならびに異なる温度条件における *ef1* の開花特性を評価した。その結果、25℃条件では NIL 間の開花日の差異は長日条件においても約 4 日程度と小さく、一方、16 時間日長の条件下では、低温（18℃）下で 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。低温により両遺伝子ともに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。原因遺伝子である *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* とともに *E1* の発現が上昇したが、*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、*ef1* は低温による開花抑制を緩和する遺伝子であると結論付けた。

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。データベースに登録されている栽培および野生ダイズ 512 系統のリシークエンスデータを用いて、*COL2b* とその相同遺伝子（*COL2a*、*COL1a* および *COL1b*）の塩基多型を調査した。その結果、*COL1a* を除き、*COL2b* と他の 2 遺伝子では、アミノ酸置換を伴う塩基多型は主に野生系統で検出され、栽培ダイズにおけるそれらの分子多様性は著しく限られていることを明らかにした。

以上の結果を基に、張　静語は、重イオンビーム照射により誘発された早生突然変異 *ef1* は、*COL2b* を含む 214 kb の欠失に起因し、冷涼な環境下での開花抑制を緩和する遺伝子であることを明らかにした。また、*COL2b* の開花の低温応答における機能と開花抑制因子 *E1* を介した感光性遺伝子との開花ネットワークならびにダイズの冷涼環境への適応性育種研究における *ef1* の有用性を考察した。これらの成果は、ダイズの冷涼環境に対する適応性に密接に関わる開花の低温応答に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、張　静語が博士（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。