

	オワリ スガル
氏 名	小澤 傑
本籍（国籍）	秋田県
学位の種類	博士（農学）
学位記番号	連論第178号
学位授与年月日	平成30年3月23日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当論文博士
研究科及び専攻	連合農学研究科
学位論文題目	ダイズにおける juvenile-adult 相転換に関与する因子の解析 (Analysis of juvenile-adult phase change in soybean)
学位審査委員	主査 岩手大学 教授 高畑 義人 副査 畠山 勝徳(岩手 准教授), 三浦 秀穂(帯広 教授), 笹沼 恒男 (山形 准教授)

論文の内容の要旨

植物の栄養生長相では、juvenile phase から adult phase へ相転換（JA 相転換）が起こる。シロイヌナズナやイネ、トウモロコシを中心にこの JA 相転換に関する研究が進められており、JA 相転換によって形態が変化することが報告されている。分子生物学的な解析も精力的に行われ、*micro RNA (miR) 156* や *miR172* の発現の変化が関連することや JA 相転換の制御に関わる遺伝子が同定されている。また、日長や温度などの外的要因、ジベレリンや糖などの内的要因なども JA 相転換に影響を与えることが報告されている。一方、世界的に重要な作物であるダイズの JA 相転換に関する知見は少ない。本研究は、ダイズにおける JA 相転換の知見を蓄積することを目的とした。

第1章では、ダイズ 85 系統用いて「エンレイ」で報告された JA 相転換に関連する形態変化がダイズで一般的であるのか否かを調査した。その結果、葉序、葉形、トライコームは、ダイズに共通した形態変化ではないことが明らかとなった。一方、葉の大きさと托葉は、ダイズに共通する形態変化であり、特に葉の大きさはダイズの JA 相転換の指標となることが示唆された。葉の大きさが変化する葉位は系統によって異なり、JA 相転換が起こる時期には多様性が認められた。日長条件が異なる 2 ヶ年の調査を行ったが、葉の大きさが急激に変化する葉位が年度間で異なる系統群と大きな差がない系統群の 2 つに分類された。分類した系統群では、感光性に関する *E3* 遺伝子座の遺伝子型が異なる傾向が認められ、*E3* 遺伝子座の遺伝子型と日長が JA 相転換の制御に関わることを示唆された。

第2章では、感光性の弱い「エンレイ」(*E1e2e3E4*) と感光性の強い「Peking」(*e1-pE2E3E4*) を異なる日長条件で生育し、日長条件と感光性が JA 相転換に与える影響について詳細に解析した。「エンレイ」は、日長条件に

かかわらず一定の葉位で葉の大きさが変化しており、*miR156* の発現量に大きな差が認められなかった。一方、「Peking」は、日長条件によって、葉の大きさが変化する葉位が異なり、*miR156* の発現量も異なっていた。これらのことより、JA 相転換は日長の影響を受けるが、その程度は品種の感光性によって異なることが考えられた。また、「エンレイ」と「Peking」は感光性に関する *E2* と *E3* 遺伝子の遺伝子型が異なることから、*E2*、*E3* が JA 相転換の制御に関与することが示唆された。ダイズの生育後期では、長日条件下において *miR172* の発現量が減少し、品種によってその程度が異っており、発現パターンがシロイヌナズナと異なるという新たな知見も得られた。

第 3 章では、長日条件下の生育後期に *miR172* の発現量が減少する原因を明らかにするため、*miR172* の転写を促進する *Squamosa promoter binding protein-like (SPL)s* や *miR172* の生合成経路に関わる遺伝子の発現パターンを調査した。一部の *GmSPLs* は、長日条件で生育後期の発現量が減少し、特に、*GmSPL9c* は「Peking」でのみ発現量が減少した。また、「Peking」では、*miR172* の前駆体の発現が認められるものの、生合成に関わる *Dicer-Like 1* と *SERRATE* の発現量が減少していた。これらのことより、ダイズにとって開花が抑制される長日条件では、生育後期に一部の *GmSPLs* の発現が抑制されることに加え、*miR172* の生合成経路が阻害されるために *miR172* の発現量が減少していると考えられた。また、これらの減少の程度は、品種の感光性によって異なることが示唆された。さらに、「エンレイ」に「Peking」の *E2* と *E3* 遺伝子をそれぞれ導入した準同質遺伝子系統 (NILs) を用い、*E2* と *E3* 遺伝子の JA 相転換への影響を調査した。長日条件下の NILs は「エンレイ」よりも JA 相転換が遅延し、それぞれ *E2* と *E3* 遺伝子は長日条件下で JA 相転換を遅延させることが示唆された。一方、短日条件下の NILs は、「Peking」よりも後期の生育段階で JA 相転換が起きており、「エンレイ」とほぼ同等の生育段階であった。*E2* と *E3* 遺伝子の両方が機能型になると、短日条件下で「Peking」のように早期に JA 相転換が起きる可能性が示唆された。本研究では、「Peking」の *E2*、*E3* 遺伝子の両方を導入した NIL を扱っておらず、今後、この材料を用い、解析を進めることによって短日条件下における JA 相転換と *E2*、*E3* 遺伝子の関係性が明らかになると考えられる。

論文審査の結果の要旨

植物の栄養生長相では、幼若相 (juvenile phase) から成熟相 (adult phase) へ相転換 (JA 相転換) が起こる。シロイヌナズナ等で JA 相転換に伴う形態変化や *micro RNA(miR) 156* や *miR172* の発現の変化が生じることが知られている。しかし、ダイズの JA 相転換に関する知見はほとんどない。本研究は、ダイズにおける JA 相転換の機構を明らかにするため形態学的及び分子生物学的解析を試みたものである。得られた成果は以下の通りである。

1. ダイズ品種「エンレイ」で報告された JA 相転換に関連する形態変化の一般性を 85 品種・系統を用いて調査した。その結果、葉の大きさと托葉の変化はダイズに共通する形態変化であり、特に葉の大きさが JA 相転換の指標となることを明らかにした。また葉の大きさが変化する葉位には系統間差異があり、JA 相転換が起こる時期には多様性があることを見いだした。日長条件が異なる 2 年の調査から、葉の大きさが変化する葉位が年度間で異なる系統群と差がない系統群の 2 群があることを明らかにした。これら 2 群の間では、感光性に関する *E3* 座の遺伝子型が異なることを見だし、*E3* 座の遺伝子型と日長が JA 相転換の制御に関わることを示唆した。一方、葉序、葉形、トライコームは、ダイズに共通した形態変化ではないことを明らかにした。

2. *E3* 座の関与に関し、感光性の弱い「エンレイ」(*E1e2e3E4*) と感光性の強い「Peking」(*e1-pE2E3E4*) を用い、日長条件が JA 相転換に与える影響について解析した。「エンレイ」は日長条件にかかわらず一定の葉位で JA 相転換が起き、「Peking」は日長条件によって JA 相転換の時期が異なることを見だし、JA 相転換は日長の影響を受けるが、その程度は品種の感光性によって異なることを明らかにした。また「エンレイ」と「Peking」は感光性に関する *E2* と *E3* の遺伝子型が異なることから、両遺伝子が JA 相転換に関与することを推察した。生育後期では、長日条件下で *miR172* の発現量が減少し、品種によってその程度が異なっており、発現パターンがシロイヌナズナと異なるという新たな知見も得た。

3. *E2* と *E3* 遺伝子の JA 相転換への関与を明らかにするため、「エンレイ」に「Peking」の *E2* と *E3* 遺伝子をそれぞれ導入した準同質遺伝子系統(NILs)を用い解析した。その結果、両遺伝子はそれぞれ長日条件下で JA 相転換を遅延させることを明らかにした。一方、短日条件下で NILs は「Peking」よりも JA 相転換が遅く、「エンレイ」とほぼ同等であったことから、*E2* と *E3* の両方が機能型になることで、短日条件下で「Peking」のように早期に JA 相転換が起きる可能性が示唆された。長日条件下の生育後期に *miR172* の発現量が減少する原因を明らかにするため、*miR172* の転写を促進する *SPLs* や *miR172* の生合成経路に関わる遺伝子の発現を調査した。その結果、開花が抑制される長日条件では、生育後期に一部の *GmSPLs* の発現が抑制されることに加え、*miR172* の生合成経路が阻害されるために *miR172* の発現量が減少していることを指摘した。

以上のように、本研究はダイズの JA 相転換に関し多くの新知見を得たものである。よって、本審査委員会は、「岩手大学大学院連合農学研究科博士学位論文審査基準」に則り審査した結果、本論文を博士（農学）の学位論文として十分に価値あるものと認めた。

学位論文の基礎となる学術論文

1. Ozawa, S., K. Hatakeyama, Y. Takahata and S. Yokoi (2017)

The transition time from the juvenile phase to the adult phase differs in soybean cultivars ‘Enrei’ and ‘Peking’. *Plant Breeding* 136: 386-392.