

氏名	Fan YAN
学位の種類	博士（農学）
学位記番号	博 甲 第 7542 号
学位授与年月日	平成 27年 7月 24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	生命環境科学研究科

学位論文題目 Molecular Genetic Studies on Soybean Mutants for Anthocyanin Biosynthesis
(ダイズのアントシアニン合成突然変異体に関する分子遺伝学的研究)

主査	筑波大学教授（連係大学院）	博士(農学)	高橋 良二
副査	筑波大学教授（連係大学院）	農学博士	乙部 千雅子
副査	筑波大学准教授（連係大学院）	博士(農学)	田中 淳一
副査	筑波大学教授	農学博士	大澤 良

論 文 の 要 旨

ダイズは組織（花、葉、毛茸、胚軸、種皮）ごとに異なる種類のフラボノイドを蓄積し、花色は6個の遺伝子（*W1*~*W4*、*Wm*、*Wp*）に支配される。*W1*遺伝子はフラボノイド 3',5'-ヒドロキシラーゼ（F3'5'H）をコードしており、4種類のアリル（*W1* : purple、*w1* : white、*w1-lp* : light purple、*w1-m* : purple/white variegation）が報告されている。*W4*遺伝子はジヒドロフラボノール 4還元酵素2（DFR2）をコードしており、5種類のアリル（*W4* : purple、*w4* : near white、*w4-m* : purple/white variegation、*w4-p* : pale、*w4-dp* : dilute purple）が報告されている。本研究では、新たに見いだされたダイズおよびツルマメ（野生ダイズ）花色変異体の花色の遺伝様式と分子遺伝機構を明らかにした。

ダイズの紫花品種「Bay」のEMS処理によって、3種類の花色突然変異体（222-A-3 : near white、E30-D-1 : light purple、E23-H-12 : light purple）が作出された。ダイズ品種の約7割が紫花、約3割が白花であるのに対して、ダイズ野生種（ツルマメ）の花色はほとんどすべて紫で、花色の変異体はほとんど見いだされていなかったが、韓国由来のツルマメ遺伝資源の中に新規花色（near white）の系統（kw4）が見いだされた。本研究では、222-A-3、E30-D-1、E23-H-12、kw4の花色の遺伝様式と分子遺伝機構を明らかにした。遺伝分析の結果、222-A-3、E30-D-1、kw4の花色は*W4*遺伝子の変異によってもたらされることが明らかになった。対立性検定により、222-A-3とkw4の花色は*w4*アリルに支配され、E30-D-1の花色は新規のアリル（*w4-lp*）に支配されることが明らかになった。新規アリの遺伝子記号はSoybean Genetics Committeeによって承認された。DFR2遺伝子は、222-A-3では1塩基が欠失し、フレームシフトによって23アミノ酸からなる機能を失ったタンパクが合成されていた。E30-D-1では、1個のアミノ酸が置換して機能が低下したタンパクが合成されたと考えられた。kw4ではプロモーター領域に変異が見られ、DFR2遺伝子が発現していなかった。一方、遺伝分析の

結果、E23-H-12の花色はWI遺伝子の変異によってもたらされることが明らかになった。また、対立性検定により、E23-H-12の花色が新規のアリル (*w1-lp2*) に支配されることが明らかになった。新規アリルの遺伝子記号はSoybean Genetics Committeeによって承認された。E23-H-12のF3'5'H遺伝子には1塩基置換 (1アミノ酸の変異) が見いだされ、F3'5'H遺伝子の機能が低下していると判断された。

ダイズの種皮は5個の遺伝子 (*T*, *I*, *O*, *R*, *WI*) に支配される。*R*遺伝子はMYB転写因子をコードし、3種類のアリル (*R*: black, *r*: brown, *r-m*: black/brown variegation) を持っている。*r-m*アリルは韓国の在来種に見いだされた斑入り変異のアリルであり、*R*遺伝子にトランスポゾンが挿入されていると想定された。MYB転写因子遺伝子をクローンニングして塩基配列を調べたところ、斑入り種皮の変異体では第2イントロンに13,060塩基のトランスポゾンが挿入されており、*Tgm11*と命名した。*Tgm11*は、両端にCACTAモチーフ、30塩基のinverted terminal repeat、11反復と17反復のsubterminal repeat、挿入位置に3塩基 (ATG) の重複を有し、CACTAファミリーのトランスポゾンであることが明らかになった。*Tgm11*はトランスポサゼに対応する2個のORFを持っており、アクティブで自律的なトランスポゾンと考えられ、遺伝子タギングの道具として育種的にも有用と考えられた。

花色、種皮色、胚軸色はそれぞれ独立に遺伝するものではなく、同一の遺伝子が複数の組織の着色を制御することが明らかになっている。そこで、人工気象室 (明所または暗所) で栽培した花色変異体の幼苗から胚軸と子葉に含まれるフラボノイド成分 (アントシアニン、フラボノール、ジヒドロフラボノール、イソフラボン) をHPLC分析で調査した。その結果、胚軸中にフラボノールは見いだされなかったが、それ以外の成分には系統間差異が見いだされた。紫胚軸にはmalvidin 3,5-di-*O*-glucosideが、bronze胚軸にはpeonidin 3,5-di-*O*-glucosideが含まれていた。今後の解析によって、もやしとして消費した場合に健康機能性に効果のある成分が見いだされることが期待される。

審 査 の 要 旨

本論文では、ダイズおよび野生ダイズから見いだされた新規花色変異体の遺伝様式を明らかにし、2個の新たなアリルを見いだした。また、同変異体の花色変化のメカニズムを遺伝子レベルで解明した。さらに、ダイズの種子斑入り突然変異系統からアクティブで自律的な新規トランスポゾン (*Tgm11*) を単離し、遺伝子タギングの基盤を提供した。本研究は遺伝学、分子生物学、有機化学の手法を組み合わせた成果であり、高い学術的価値を持つだけでなく、育種的にも重要な意味を持つ。以上の理由により、学位授与にふさわしいと判断された。

平成27年6月2日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士 (農学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。