

(続紙 1)

京都大学	博士 (農 学)	氏名	西村 和紗
論文題目	Studies on utilization of tetraploid wheat (<i>Triticum turgidum</i> L.) as genetic resources and improvement of breeding efficiency by novel techniques for detecting nucleotide polymorphisms (四倍体コムギの遺伝資源の活用と新規の塩基多型取得技術による育種の効率化に関する研究)		
(論文内容の要旨)			
<p>コムギ(<i>Triticum</i> spp.)は世界の三大作物の一つであり、その育種においては更なる収量増加とともに安定生産が求められる。その際、開花期の遺伝的な最適化は収量および品質の安定化に資することから、開花期に関する多様な遺伝子素材を同定することは極めて重要である。この点において、広く栽培されているフツウコムギ(<i>T. aestivum</i> L.)の祖先である四倍体コムギ(<i>T. turgidum</i> L.)は遺伝的に多様性が認められ、未利用の遺伝資源を含む重要な研究対象である。そこで、本研究では、四倍体コムギに潜在する未知の開花関連遺伝子を同定するとともに、遺伝子同定や系統育成の効率化を可能とする次世代シーケンサー(NGS)を用いた新規のゲノム配列解析技術を開発し、その実用性の実証研究を行うことを目的とした。</p> <p>四倍体のエンマーコムギ系統TN26(<i>T. turgidum</i> L. ssp. <i>dicoccum</i>)は、<i>Ppd-A1</i>座に晩生アレルを保有するにもかかわらず同座に早生アレルを保有する四倍体コムギ系統TN28(<i>T. turgidum</i> L. ssp. <i>durum</i>)より早く出穂することから、自然日長条件下で<i>Ppd-A1</i>の効果を上回る早生遺伝子を保有することが示唆された。第1章では、TN26が保有する<i>Ppd-A1</i>の早生化作用を超える遺伝子の同定、機能の解析および分布の調査を目的とした。TN26およびTN28の交雑集団を用いた出穂期に関するQTL解析の結果、TN26はシロイヌナズナの<i>FLOWERING LOCUS T</i>のオルソログである<i>VRN-A3</i>の早生アレルを保有し、そのプロモーター領域に挿入多型が存在することを明らかにした。さらに、遺伝子発現解析の結果、短日条件において<i>VRN-A3</i>の発現量に<i>VRN-A3</i>のアレル間で有意差が認められることを明らかにした。また、栽培種、野生種を含む多様なコムギ系統を供試し<i>VRN-A3</i>のアレルの分布の調査を行った結果、早生化作用の確認できた<i>VRN-A3</i>アレルである<i>Vrn-A3a-h1</i>および<i>Vrn-A3a-h2</i>は、インドおよびエチオピアのエンマーコムギに主に分布し、主要な栽培種であるパンコムギおよびマカロニコムギには分布していないことを明らかにした。これらの結果から、<i>VRN-A3</i>早生アレルが主要な栽培種の早生化育種に利用できる可能性が示唆され、四倍体コムギの遺伝資源としての有用性が再確認された。</p> <p>第2章では、コムギの遺伝子探索および育種の更なる効率化のために、NGSによる遺伝子型決定を簡便に行う技術の開発を進めた。生態学の研究に広く用いられているMIG-seq(Suyama and Matsuki 2015)はライブラリー構築が容易であるという利点があることに着目し、コムギにおけるMIG-seqの多型検出の有効性を確認するために、コムギを含む複数の作物種に対してMIG-seqによる多型検出効率の検証を行った。MIG-seqによって配列決定可能な領域数とゲノムサイズには正の相関が認められ、コムギにおいては比較的多くの多型を検出できることを見出した。また、四倍体コムギの交雑集団にMIG-seqを適用し、QTL解析を行ったところ、既報と齟齬のない位置に開</p>			

花期に関するQTLが検出され、MIG-seqがコムギの遺伝解析に有効であることを示した。さらに実用的な多型検出法の開発を目指し、MIG-seqの操作の簡便さとddRAD-seqの検出領域数の可変性を併せ持つ新手法、degenerate oligonucleotide primer MIG-seq(dpMIG-seq)法を開発し、コムギにおける活用法の検討を行った。dpMIG-seqは151 bp paired endで0.3 Gbのデータ量の場合、多様な作物種において検出できる多型数が増えたにも関わらず、コムギにおいてはMIG-seqよりも検出できる多型数が増えなかった。しかし、コムギにおいても2 Gb以上にデータ量を増やした場合、MIG-seqよりも多くの多型が検出できることが明らかとなった。これらの実験を通して、コムギの迅速な多型検出の基盤が確立された。

第3章では、1章で同定した*VRN-A3*早生アレルと2章で開発した遺伝解析技術を用いて、迅速な系統育成の実証実験を行った。日本のマカロニコムギ品種は栽培適地が瀬戸内地域に限られているセトデュールのみであり、より早生の形質を保有し幅広い地域において栽培できるマカロニコムギ品種の開発が求められているため、MIG-seqおよびdpMIG-seqの適用によって、TN26の*VRN-A3*の染色体領域以外の領域が全てセトデュール型のNILsの構築を効率的に実施することを試みた。セトデュールを反復親として戻し交雑を進め、*VRN-A3*領域がヘテロのBC₄F₁個体の後代BC₄F₂16個体についてMIG-seqによって得たグラフィカルジェノタイプをもとに、TN26型ホモ領域が認められない個体を選抜した。その次代BC₄F₃39個体から、残存ヘテロ領域がセトデュール型に概ね置き換わっていると考えられる個体に対して、MIG-seqおよびdpMIG-seqを適用することによって、*VRN-A3*以外の領域がセトデュール型に置き換わっていることを確認した。これらの操作を通して、NILs選抜の際の高精度な遺伝的背景の確認のために、MIG-seqおよびdpMIG-seqを適用することの有用性が実証された。

以上より、本研究は四倍体コムギの遺伝資源としての有用性を示すとともに、生態学研究に利用の限られていたMIG-seqのコムギにおける新たな活用法の開発およびその改良を行ったものであり、コムギだけではなく幅広い作物育種に貢献する重要な知見を示した。

注) 論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は1頁を38字×36行で作成し、合わせて、3,000字を標準とすること。

論文内容の要旨を英語で記入する場合は、400～1,100 wordsで作成し
審査結果の要旨は日本語500～2,000字程度で作成すること。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

コムギ(*Triticum* spp.)は、世界の三大穀物の一つであり、安定生産が求められている。今後の気候変動に対応して、コムギの出穂開花日を最適化するためには、様々な遺伝子素材の同定および、その有効な利用法の確立が必須である。本研究は、出穂開花期を対象とした遺伝解析を通して、四倍体コムギの遺伝資源としての有用性を実証するとともに、ゲノムサイズの大きいコムギにおいてMIG-seqが有効であることを示したうえで新たにその改良法dpMIG-seq開発し、これらを選抜過程に適用することによって迅速な品種育成を実証したものである。評価すべき点は以下のとおりである。

1. 広く栽培されているパンコムギの祖先種である四倍体のエンマーコムギ系統から、これまで開花期に関する変異が報告されていなかった *VRN-A3* 遺伝子の新規の早生アレルを同定した。さらに、*VRN-A3*早生アレルがパンコムギやマカロニコムギといった主要な栽培種には分布しておらず、四倍体コムギには選抜やボトルネック効果によって主要な栽培種には分布していない有用遺伝子が存在することを実証した。
2. 生態学の研究において広く利用されているMIG-seqを作物の遺伝解析に初めて利用し、ゲノムサイズの大きいコムギにおいては有効な多型検出法であることを明らかにした。また、その改良法 degenerate oligonucleotide primer MIG-seq (dpMIG-seq) 法を独自に開発し、多様な作物に利用可能な、迅速で簡易なNGSによる多型検出の基盤を確立した。
3. MIG-seqおよびdpMIG-seqを適用して *VRN-A3*早生アレルを既存のマカロニコムギ品種に迅速に導入する選抜操作を実施することによって、四倍体コムギ由来の遺伝子および新規の多型検出技術を用いた系統育成法を確立した。

以上のように、本研究は、四倍体コムギを対象とした開花期に関する詳細な遺伝解析および多様なコムギ品種を用いた調査を通して、四倍体コムギの遺伝資源としての有用性を示すとともに、これらの遺伝資源を迅速に育種利用するためのNGSを用いた多型検出法の確立を達成した。この成果は、コムギをはじめとした作物育種に貢献する重要な知見を提供するものであり、育種学、作物学、遺伝学およびゲノム生物学の発展に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士(農学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、令和4年10月20日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士(農学)の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。

(また、本論文は、京都大学学位規程第14条第2項に該当するものと判断し、公表に際しては、当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。)

注) 論文内容の要旨、審査の結果の要旨及び学位論文は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。

ただし、特許申請、雑誌掲載等の関係により、要旨を学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日以降 (学位授与日から3ヶ月以内)