

(論文内容の要旨)

ダイズは、古来より日本人に親しまれてきた重要な作物である。近年、ダイズ種子が有する健康効果が着目され、その要因がフラボノイドの一種であるイソフラボンおよび種子貯蔵タンパク質などによることが明らかになりつつある。イソフラボンは、Daidzein、Genistein および Glycitein を骨格とした 12 成分によって構成され、種々の環境要因により蓄積量が著しく変化することが知られている。一方、ダイズの種子貯蔵タンパク質は主に β -conglycinin および Glycinin によって構成されている。 β -conglycinin は α 、 α' および β サブユニットから構成される 3 量体、Glycinin は酸性および塩基性ポリペプチドから構成される 6 量体であり、これらタンパク質の発現は時期および組織特異的な制御を受ける。本研究は、イソフラボンおよび種子貯蔵タンパク質含量に関する quantitative trait loci (QTL) 解析を行って、これら種子成分の含量を制御する遺伝的メカニズムを明らかにするとともに、ガンマ線照射による高イソフラボン突然変異体を育成しようとしたものである。以下に成果の概要を示す。

1. ダイズ品種 Peking とタマホマレの交雑に由来する組換え自殖系統（以下、RILs）の F₈ 集団 96 系統の F_{8:9} 種子（京都で栽培・収穫）、および F₉ 集団 96 系統の F_{9:10} 種子（京都と長野で栽培・収穫）を供試した。系統ごとに 12 種類のイソフラボンの含量を測定し、それらの値を基に Daidzein、Genistein および Glycitein グループそれぞれの総含量（それぞれ、DAC、GEC、GLC）および総イソフラボン含量（TIC）を算出し、QTL 解析を行った。その結果、TIC に関して 2 つの QTL (*qIso1*、*qIso2*)、GLC に関して 1 つの QTL (*qIso3*) が検出された。*qIso1* 領域に DAC、GEC、GLC に関与する QTL が F₈ および F₉ 集団のすべての試験区において検出されたことから、*qIso1* は全成分の増減を強く支配する遺伝的要因であることが明らかになった。*qIso2* 領域には DAC および GEC に関与する QTL が京都で栽培した F₈ および F₉ 集団において検出されたが、長野で栽培した集団では検出されなかった。したがって、*qIso2* は環境要因によりその効果が顕著に変化する遺伝的要因であることが示唆された。一方、*qIso3* は GLC に対して顕著な効果を示したのに対し、総イソフラボン含量には影響を及ぼさなかった。このことから、*qIso3* はイソフラボンの成分比を制御する遺伝的要因であると考えられた。総イソフラボン含量に対して最も顕著な効果を示した *qIso1* 近傍にはイソフラボン生合成の上流に関与する *Chalcone synthase* 遺伝子が複数 (*CHS1*, *CHS3*, *CHS4*) 座乗していることから、イソフラボンの蓄積が最も著しい登熟ステージにおいて *CHS* の発現解析を行った。その結果、*CHS1*、*CHS3*、*CHS4* の発現とイソフラボン蓄積パターンは一致せず、これらの *CHS* 遺伝子はイソフラボン生合成とは無関係であると考えられた。

2. 上記と同じ RILs の F₈ 集団を京都、大阪、および長野で栽培して得られた F_{8:9} 種子を供試し、系統ごとに β -conglycinin サブユニット (α 、 α' および β) 含量および Glycinin 含

量を測定し、成分ごとに QTL 解析を行った。その結果、 α および α' サブユニット含量では全栽培地に共通する主要な QTL が 1 つ ($qPro1$)、 β サブユニット含量に関しては京都と長野に共通する主要な QTL が 2 つ ($qPro2$, $qPro3$) 検出された。 β -conglycinin および Glycinin 含量に関しては、京都および長野において $qPro1$ 、 $qPro3$ 近傍に QTL が検出された。これら QTL のタマホマレ型アレルが β -conglycinin 含量を向上させる一方、Glycinin 含量を減少させる効果を示したことから、これらの QTL は貯蔵タンパク質の成分比を制御する遺伝的要因であると考えられた。また、 $qPro1$ 、 $qPro2$ 、 $qPro3$ 近傍領域には総タンパク質含量に関する QTL が検出されず、種子貯蔵タンパク質の総含量とその組成は異なる遺伝的要因により制御されていることが明らかになった。

3. 突然変異の利用による高イソフラボン系統の育成を目的に、分光光度計を用いた種子中の総イソフラボン含量の簡易測定法を確立した。この簡易測定法による評価は高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による測定結果とほぼ一致しており、イソフラボン変異体のスクリーニングに適していると考えられた。確立された簡易測定法を用いて、ダイズ品種丹波黒のガンマ線種子照射後代 M_2 2259 個体からイソフラボン含量変異体をスクリーニングした。その結果、原品種よりイソフラボン含量が高い個体が 22 個体、低い個体が 7 個体得られた。これら 29 個体の自殖次代 (M_3 系統) 354 個体について二次スクリーニングを行ったところ、原品種よりイソフラボン含量が高い個体が 6 個体、低い個体が 5 個体得られた。また、イソフラボン含量の変異個体が比較的高い頻度で出現したことから、ダイズ種子中のイソフラボン含量は多様な遺伝的要因によって支配されていることが示唆された。

(論文審査の結果の要旨)

近年、ダイズ種子が有する健康効果が着目され、その効果の多くがフラボノイドの一種であるイソフラボンおよび種子貯蔵タンパク質に起因することが明らかになりつつある。ダイズ種子に含まれるイソフラボンは Daidzein、Genistein および Glycitein を骨格とした 12 成分によって構成されており、その含量は種々の環境要因により著しく変化する。一方、ダイズの種子貯蔵タンパク質は主に β -conglycinin および Glycinin によって構成されている。 β -conglycinin は α 、 α' および β サブユニットから構成される 3 量体、Glycinin は酸性および塩基性ポリペプチドから構成される 6 量体であり、これらタンパク質の発現は時期および組織特異的な制御を受ける。本研究は、これら種子成分の含量を制御する遺伝的メカニズムを解明するため、イソフラボンおよび種子貯蔵タンパク質含量に関する quantitative trait loci (QTL) 解析を行うとともに、ガンマ線照射による高イソフラボン突然変異体の育成を試みたものである。本研究の評価すべき点は以下のとおりである。

1. ダイズ種子中のイソフラボン含量に関する QTL 解析により、総イソフラボン含量を制御する 2 つの QTL (*qIso1*、*qIso2*) およびイソフラボン成分比を制御する 1 つの QTL (*qIso3*) を同定した。*qIso1* 近傍には Chalcone synthase 遺伝子(*CHS1*、*CHS3*、*CHS4*)が座乗することから、ダイズの登熟期間中における *CHS* の発現解析を行い、これらの *CHS* 遺伝子がイソフラボン生合成に直接関与していないこと、すなわち *qIso1* は *CHS1*、*CHS3* および *CHS4* からなる複合座とは座を異にすることを明らかにした。

2. ダイズ種子中のタンパク質含量に関する QTL 解析により、 β -conglycinin の α および α' サブユニット含量に関与する主要な QTL を 1 つ (*qPro1*) および β サブユニット含量に関与する主要な QTL を 2 つ (*qPro2*、*qPro3*) 同定した。*qPro1*、*qPro3* は β -conglycinin 含量と Glycinin 含量に対して異なる効果を示したことから、これらの QTL は貯蔵タンパク質の成分比を制御する遺伝的要因であることを示した。*qPro1*、*qPro2*、*qPro3* 近傍領域には総タンパク質含量に関する QTL が検出されなかったことから、種子貯蔵タンパク質の総含量とその組成は異なる遺伝的要因により制御されていると結論した。

3. 高イソフラボン変異体の育成を目的に、分光光度計を用いた種子中の総イソフラボン含量の簡易測定法を確立した。さらに、この簡易測定法を用いて、品種丹波黒種子のガンマ線種子照射後代より高イソフラボン突然変異系統を 5 系統、および低イソフラボン突然変異系統を 6 系統獲得することに成功した。また、イソフラボン含量の突然変異個体が比較的高い頻度で出現したことから、ダイズ種子中のイソフラボン含量は多様な遺伝的要因によって支配されていると考察した。

以上のように、本論文は、ダイズ種子中のイソフラボン含量およびタンパク質含量を制御する主要な QTL を同定し、有用なイソフラボン突然変異体を作出した成果をとりまとめたものであり、植物育種学、植物遺伝学、植物生理学および関連分野の発展に寄与するところが多い。

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、平成 21 年 2 月 16 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。