

学 位 論 文 要 旨	
氏 名	Md. Abdur Rauf Sarkar
題 目	Studies on genetic improvement of isoflavone biosynthetic pathway in soybean (ダイズのイソフラボン生合成経路の遺伝的改良に関する研究)
<p>ダイズのイソフラボン類は、主に種子に蓄積される二次代謝物であり、ヒトに対する機能性と共に、根粒菌との相互作用においても重要な役割を果たすことが知られている。そのため、イソフラボン類の蓄積量を変化させる改良は、ダイズにおける新たな育種目標の一つとなり得る。一方、イソフラボン類の生合成経路には、協調的に転写が調節された複数の酵素遺伝子が関与することが知られており、代謝工学的改良の標的が異なる 2 つのアプローチが想定される。一つ目は、個々の代謝ステップに関わる酵素をコードする遺伝子を標的とするアプローチであり、もう一つは、これらの酵素遺伝子の発現制御に関与している転写因子を標的とするアプローチである。本論文では、これら双方のアプローチを用いて、改良の標的となる遺伝子の探索を試みた。</p> <p>はじめに、イソフラボン類の生合成経路に関与する酵素をコードする遺伝子を標的として、ダイゼイン系列の化合物が減少し、ゲニステイン系列の化合物が増加する表現型を示した突然変異系統 F333ES017D9 の原因遺伝子の特定を試みた。その結果、F333ES017D9 系統では、カルコン還元酵素をコードする GmCHR5 遺伝子の第 3 エキソン上に 1 塩基の欠失が生じ、フレームシフトが引き起こされていることが明らかになった。さらに、ダイズの毛状根における GmCHR5 遺伝子の過剰発現が、F333ES017D9 系統の表現型を部分的に相補することも明らかにした。これらの結果から、F333ES017D9 系統が保持する変異型 GmCHR5 遺伝子は、ダイズにおいてダイゼイン系列とゲニステイン系列のイソフラボン類の比率を変化させるために利用可能であることが示された。</p> <p>次に、イソフラボン生合成経路に関わる酵素遺伝子の発現を協調的に制御している転写因子を同定するため、アグロインフィルトレーションと毛状根形質転換を組み合わせた、新たな転写因子スクリーニングシステムの開発を試みた。その際、登熟中の種子において強く発現が誘導される GmCHS8、GmIFS1 および GmIFS2 遺伝子のプロモーターと GUS 遺伝子をそれぞれ融合させたプラスミドと、強力な LjUbi 遺伝子のプロモーターと検定する MYB 遺伝子を融合させたプラスミドをアグロインインフィルトレーション法により共形質転換することで、イソフラボン生合成経路の調節関わる可能性のある 3 つの MYB 遺伝子 (GmMYB102、GmMYB280 および GmMYB502) を見出した。さらに、ダイズの毛状根形質転換系を用いて、これら全ての MYB 遺伝子の過剰発現が、毛状根中の総イソフラボン量を増加させることを明らかにした。この結果、本スクリーニング系は特定の生合成経路に関与する転写因子の同定に有効であり、今後の転写因子を標的としたイソフラボンの代謝工学的改良に利用可能であることが示された。</p>	