

## 学位論文審査結果の要旨

|  |   |
|--|---|
| 学位申請者<br>氏 名   | Md. Abdur Rauf Sarkar   |
| 審査委員   | 主査 佐賀大学 教授 穴井 豊昭  |
|  | 副査 佐賀大学 講師 渡邊 啓史  |
|  | 副査 鹿児島大学 教授 橋本 文雄   |
|  | 副査 佐賀大学 教授 鈴木 章弘  |
|  | 副査 琉球大学 教授 モハメド アムザド ホサイン   |
| 審査協力者  |   |
| 題 目  | <p>Studies on genetic improvement of isoflavone biosynthetic pathway<br/>in soybean<br/>(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> |
| <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るが、これらはヒトに対する機能性物質として、近年注目を集めていることに加え、マメ科植物に感染する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、イソフラボン類の代謝経路や蓄積量を変化させる遺伝的改良は、ダイズにおける新たな育種目標の一つとなり得ると考えられる。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、改良を進める上で、2つの異なるアプローチが想定される。一つ目は、個々の代謝ステップを触媒する酵素遺伝子を標的としたアプローチであり、もう一つは、これらの酵素遺伝子の発現を制御している転写因子を標的としたアプローチである。本研究は、これら双方のアプローチを用いた際のダイズにおけるイソフラボン代謝経路の改変についての可能性を探ったものである。</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してい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した表現型を示す突然変異系統 (F333ES017D9) の原因遺伝子のマッピングを試み、第 18 番染色</p> |   |

体上に座乗し、カルボン還元酵素をコードしている *GmCHR5* 遺伝子の第3エクソン上に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を見出した。さらに、ダイズの毛状根における *GmCHR5* 遺伝子の過剰発現が、当該変異系統の表現型を部分的に相補することも明らかにした。これらの結果は、F333ES017D9 系統が保持する変異型 *GmCHR5* 遺伝子が、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を示した。また、これまでの研究において、この様な特性を示すダイズ変異体はこれまでに報告されておらず、F333ES017D9 系統は、ダイズのイソフラボン含量の改変において極めて貴重な遺伝資源となると考えられた。

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新規の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法とダイズ毛状根の形質転換法の組み合わせにより、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に *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に検定する *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に関わる可能性のある3つの *MYB* 遺伝子 (*GmMYB102*、*GmMYB280* および *GmMYB502*) を同定した。さらに、ダイズ毛状根の形質転換法を用いて、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イソフラボンの生合成経路に関与する新規の *MYB* 転写因子の同定に有効であり、転写因子を標的とした代謝工学的改良にも新たな道を開いたものと考えられる。

以上の様に、本研究では、転写因子によって協調的に発現制御を受ける多数の酵素遺伝子が関与するイソフラボンの代謝経路に対して、個々の酵素遺伝子に生じた突然変異を標的としたものと、これらの酵素遺伝子の発現を制御している転写因子を標的としたものの2つの異なるアプローチを統合することで、より複雑な代謝経路の改良が可能性であることを示したものであり、その成果は、今後のダイズの代謝成分に関する品種改良において極めて重要な知見を与えたと考えられる。

これらのことから、審査員一同は、本論文を博士（農学）の学位論文として、十分な価値を有するものと判断した。