

博士論文の要旨及び審査結果の要旨	
氏名	SANKHUAN Darunmas
学位	博士 (学術)
学位記番号	新大院博 (学) 第 226 号
学位授与の日付	令和 4 年 9 月 20 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
博士論文名	Effects of overexpression or suppression of heterologous or homologous genes on phenotypic alteration in transgenic plants (外来および内生遺伝子の過剰発現および発現抑制が形質転換体における表現型の変化に及ぼす影響)
論文審査委員	主査 教授・中野 優 副査 教授・末吉 邦 副査 教授・大竹 憲邦 副査 教授・山田 宜永 副査 助教・大谷 真広
<p>博士論文の要旨</p> <p>ゲノムと表現型の関係を解明する機能ゲノミクスにおいては、複数の遺伝子がどのように連携して相互作用するかを理解することが重要である。遺伝子発現の変化は表現型に大きな影響を及ぼす。本研究では、表現型応答に対する遺伝子発現の影響を明らかにするために、2つの異なるモデル植物を用いて、異なる遺伝子発現パターンが表現型に及ぼす影響を調査した。</p> <p>まず、双子葉植物のシロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>) から花芽分化に関する転写因子 LEAFY (LFY) の遺伝子 (<i>AtLFY</i>) を単離し、アグロバクテリウム法により単子葉花き園芸植物のホトトギス (<i>Tricyrtis</i> sp.) に導入した。<i>AtLFY</i> を過剰発現する 9 系統の形質転換体が得られ、それらの全てがベクターコントロールと比較して矮性の表現型を示した。形質転換体は、矮化の程度により 3 つのタイプに分類することができた: 1 系統は著しく矮化しており小さな葉をつけていた (タイプ I); 2 系統は中程度の矮化を示した (タイプ II), 残りの 6 系統はわずかな矮化を示した (タイプ III)。タイプ I~III いずれの形質転換体も、ベクターコントロールより 1~3 週間早期に花蕾を形成した。ベクターコントロールおよびタイプ III 形質転換体は 1~4 個の頂生花蕾を形成したが、タイプ I および II 形質転換体には単一の頂生花蕾しか形成されなかった。また、タイプ I および II 形質転換体の花は、ほとんど展開しなかった。リアルタイム定量 RT-PCR を行ったところ、<i>AtLFY</i> の発現レベルと矮化の程度には相関がみられた。これらの結果は、形質転換体における形態変化が <i>AtLFY</i> の過剰発現によって誘導されたことを示している。矮性および早咲きの観賞植物の作出には外来 <i>LFY</i> の低発現レベルが有効であると考えられた。</p> <p>次に、双子葉薬用植物のクソニンジン (<i>Artemisia annua</i>) において、アルテミシニン前駆体の変換に関与する多機能セスキテルペンオキシダーゼ遺伝子 (<i>CYP71AV1</i>) を過剰発現する形質転換体 (oxCYP 系統) および RNAi により <i>CYP71AV1</i> の発現が抑制された形質転換体 (siCYP 系統) を作出した。これらについてテルペノイド化合物の分析を行ったところ、siCYP 系統ではテルペノイド化合物の数の減少がみられ、copaene や trans-β-farnesene, aromadendrene のような有用なセスキテルペンも検出されなかった。一方、oxCYP 系統においては、一部のテルペノイドのレベルが有意に増加した。アルテミシニン誘導体の含有量</p>	

は、oxCYP 系統では比較的高レベルで検出されたが、siCYP 系統ではわずかに減少していた。これらの結果は、*CYP71AV1* の発現レベルの変化により代謝産物の変化が誘導されたことを示している。

本研究は、2 種類のモデル植物において異なる遺伝子発現レベルによる表現型の変化を示したものである。*AtLFY* の過剰発現は、ホトトギスにおいて矮化および早期開花を誘導した。これにより、鑑賞植物の育種における *LFY* を用いた形質転換の有用性が示された。一方、*CYP71AV1* の過剰発現および発現抑制は、クソニンジンにおける代謝産物の変動を誘導した。*CYP71AV1* の発現が変化した形質転換体は、機能ゲノムの研究および製薬に関して有用な材料となる可能性がある。

審査結果の要旨

本論文は、ユリ科花き園芸植物のホトトギスおよびキク科薬用植物のクソニンジンを材料に用いて、形質転換体における異なる遺伝子発現パターンが表現型に及ぼす影響を調査したものである。ホトトギスにおいては、シロイヌナズナ由来の *LFY* 遺伝子を過剰発現させることにより、矮化および早期開花等の表現型の変化が誘導された。一方、クソニンジンにおいては、*CYP71AV1* 遺伝子の過剰発現または発現抑制により、テルペノイド化合物やアルテミシニン誘導体の含量に変化が生じた。以上のように、本研究により、2 種類のモデル植物において遺伝子発現レベルの変化による表現型の変化が示された。さらに、鑑賞植物の育種における *LFY* 遺伝子を用いた形質転換の有用性や、製薬における薬用植物の *CYP71AV1* 遺伝子の発現操作の有用性も示された。

本研究において得られた知見は、表現型応答に対する遺伝子発現の影響に関する基礎研究はもちろん、花き園芸植物や薬用植物の育種にも大きく貢献すると審査委員会は評価した。なお、本論文の成果の一部は、申請者を筆頭著者として、国際誌「*Plant Biotechnology*」に掲載されている。

よって、本論文は博士 (学術) の博士論文として十分であると認定した。