

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 PANJAMA Kanokwan
 学位 博士 (学術)
 学位記番号 新大院博 (学) 第 217 号
 学位授与の日付 平成 31 年 3 月 25 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 Molecular studies on *FLOWERING LOCUS T* gene in *Vanda* Hybrid
 (バンダ雑種の *FLOWERING LOCUS T* 遺伝子に関する分子生物学的研究)

論文審査委員 主査 教授・末吉 邦
 副査 教授・中野 優
 副査 教授・原田 直樹
 副査 准教授・大竹 範邦

博士論文の要旨

ラン科植物のバンダは 80 種以上が知られており、そのうち 50 種がインド、東南アジアおよびオーストラリア南東部にかけて広く分布する。第 2 次世界大戦後、多くのバンダ雑種が育成されてきた。*Vanda* ‘Ratchaburi Fuchs - Katsura’は、良く知られているバンダ雑種のうちのひとつである。この雑種は、培地を必要とせず、気根から空中の栄養分を吸収し、生育する。バンダの多くは、赤紫色の花をつけ、鑑賞用としての商品価値が高く、タイでは商業生産が盛んである。

バンダは、網カゴに植物体を直接載せ、そのかごをロープに吊り下げて栽培されるが、開花の調節が難しく、出荷に合わせて開花させることができないという難点を持つ。そのため、バンダの開花のメカニズムを解明することは重要な課題である。植物が開花に至るまでは、日長などの環境要因と開花関連遺伝子の発現などの内部要因が絡んだ複雑な過程を経るが、バンダにおいてはそれらのほとんどが明らかにされていない。

本論文は、開花に関連する遺伝子のうち、日長に応答して発現が調節されることが知られている *FLOWERING LOCUS T* (*FT*) 遺伝子について、そのオーソログをバンダから単離し、その機能を明らかにするとともに、バンダを日長を変えて栽培した時に、*FT* 遺伝子の発現がどのように変化するか調べた結果を述べている。本論文の内容は、以下のとおりである。

1) バンダ *FT* 遺伝子の単離

まず、すでに単離されたラン科オンシジウムの *FT* 遺伝子の配列を基に、植物間で共通して配列が保存されている領域を見出し、PCR 用のプライマーを作成した。次に、バンダの花序より抽出した RNA を鋳型に、作成したプライマーを用いて RT-PCR を行うことで約 150bp の断片を得た。続いて、この断片を基に 5'および 3'Race を行い、全長の *FT* オーソログ cDNA をクローニングした。この cDNA は、531bp の ORF を持ち、塩基配列から推定される *FT* のアミノ酸配列は、他の植物種のものと同様に極めて相関性が高かった。

2) バンダ *FT* 遺伝子の機能解析

バンダ *FT* (*VaFT*) 遺伝子の機能を推定するために、*VaFT*cDNA を遺伝子転換用のバイナリーベクターに組み込み、アグロバクテリウム法でシロイヌナズナに形質転換した。形質転換

シロイヌナズナの T2 植物においては、ゲノム中に外来 *VaFT* 遺伝子の存在が確認された。また、*VaFT*mRNA は形質転換体でのみ高発現しており、それに伴って内在のシロイヌナズナ *AP 1* 遺伝子も発現が誘導されていた。形質転換体の開花時期を調べたところ、花茎の抽苔および開花の日が非形質転換体と比較して2～3日早まっていることが明らかになった。これらのことは、本研究で単離された *VaFT* 遺伝子がバンダの開花関連遺伝子として機能している可能性が強く示唆された。

3) バンダにおける *FT* 遺伝子発現の日長応答性

バンダを通常条件、通常条件から短日条件に移して6週間および通常条件から短日条件に移して9週間生育させ、継時的に葉を採取してリアルタイム PCR により *VaFT* 遺伝子の発現量を測定したところ、3つの生育条件間でほとんど差がみられなかった。短日条件では、開花が遅れる傾向にあることから、今後、*VaFT* 遺伝子の発現と開花イベントの関連性のより詳細な解析が必要であることが示された。

審査結果の要旨

本論文において、申請者は、日長に応答して発現が調節されることが知られている *FT* 遺伝子オーソログをバンダ雑種より初めて単離し、その構造と機能を明らかにした。バンダにおける開花関連遺伝子の分子生物学的研究はこれまで全く行われておらず、本論文で述べられている研究はバンダの開花制御機構の分子基盤解明の端緒となるものとして高く評価できる。また、研究成果の主要部分は、*Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology* に筆頭著者論文として掲載されている。

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。