

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 大谷 真広
学位 博士 (農学)
学位記番号 新大院博 (農) 第 148 号
学位授与の日付 平成 27 年 3 月 23 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 ホトトギス属植物 (*Tricyrtis* spp.) における形質転換技術を用いた草姿および花形の改変に関する研究

論文審査委員 主査 准教授・中野 優
副査 教授・岡崎 桂一
副査 教授・末吉 邦
副査 教授・山田 宜永
副査 准教授・佐野 義孝

博士論文の要旨

本研究では、花き園芸植物における草姿や花形に関する分子育種への形質転換技術の応用を目的として、ユリ科のホトトギス属植物 (*Tricyrtis* spp.) をモデルに用いて以下のような実験を行った。

1. トレニア (*Torenia fournieri*) 由来 GA 生合成・代謝経路関連遺伝子が導入された形質転換体の作出および形質調査

GA 生合成経路関連遺伝子である *TfGA20ox2* または *TfGA3ox1* を過剰発現するホトトギス (*Tricyrtis* sp.) ‘東雲’ の形質転換体は、いずれも非形質転換体と比較してやや矮化した形態を示した。これらの系統でみられた半矮性は、園芸的に重要な形質であり、庭植えや鉢植え植物として直接利用できると考えられた。一方、GA 代謝経路関連遺伝子である *TfGA2ox2* を過剰発現する二倍体の形質転換体は、著しい矮化を示した。しかしながら、これらの形質転換体では花の形成不全が生じ、園芸的な価値は著しく低下した。なお、*TfGA2ox2* を過剰発現する四倍体の形質転換体も得られたが、この形質転換体は適度な矮化を示し、かつ正常な花をつけたことから、園芸的な価値は高いと考えられた。また、高い花粉稔性を示すことから、交雑育種の材料としての利用も可能であると考えられた。

2. ホトトギス属植物における花芽形成関連遺伝子 *LFY* の単離および機能解析

花序形成と *LFY* との関係の詳細に調査するための第一段階として、花序の形態が異なるホトトギス (*T. hirta*) およびタイワンホトトギス (*T. formosana*) における *LFY* ホモログ遺伝子の簡単な機能解析を行った。ホトトギスおよびタイワンホトトギス ‘青竜’ から単離した *LFY* ホモログ遺伝子を、それぞれ *ThirLFY* および *TforLFY* と命名した。*ThirLFY* および *TforLFY* の推定アミノ酸配列において 3 アミノ酸残基の置換が確認されたが、シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) の形質転換による機能解析においては、両遺伝子の機能に大きな違いはみられなかった。花序形成の初期ステージにおいて *in situ hybridization* 法による発現解析を行ったところ、ホトトギスでは頂芽と腋芽の両方において *ThirLFY* が発現していた

のに対し、タイワンホトトギス‘青竜’では頂芽のみで *TforLFY* が発現していた。*ThirLFY* および *TforLFY* のプロモーター解析を行ったところ、両遺伝子の塩基配列の相同性は低く、また、ホルモン応答モチーフの数と位置は大きく異なっていた。この結果は、*ThirLFY* と *TforLFY* の間における植物ホルモンへの応答性の違いにより両遺伝子の発現はパターンに違いが生じ、結果として異なる花序形態が生じるという可能性を示唆していた。

3. CRES-T 法を用いた B クラス MADS-box 遺伝子の機能抑制

ホトトギス‘東雲’由来の四倍体系統 (*Tricyrtis* sp.) を材料に用いて花器官における ABC モデル関連遺伝子の発現解析を行ったところ、ホトトギス属植物にも改変 ABC モデルが適用されることが示された。CRES-T 法により得られたいくつかの形質転換体においては、whorl 1 および whorl 2 に花弁様器官のかわりにがく片様器官が形成され、whorl 3 には雄ずいのかわりに心皮様器官が形成された。リアルタイム RT-PCR 分析の結果、形質転換体の whorl 1, whorl 2 および whorl 3 における B クラス遺伝子の発現レベルは、非形質転換体と比較して著しく減少していた。これらの結果は、同花被花植物の花器官形成における改変 ABC モデルを強く支持すると考えられた。

審査結果の要旨

本論文は、花き園芸植物における草姿や花形に関する分子育種への形質転換技術の応用を目的として、ユリ科ホトトギス属植物を材料に用い、GA 生合成代謝経路関連遺伝子を過剰発現する形質転換体の作出・形質調査、花序形態に深く関与すると予想される *LFY* ホモログ遺伝子の単離・機能解析、および CRES-T 法を用いた B クラス MADS-box 遺伝子の機能抑制を検討したものである。GA 生合成代謝経路関連遺伝子を用いた形質転換に関しては、適度に矮化して花粉稔性のある正常花をつける形質転換体を得られ、この方法による花き園芸植物の育種の可能性を示すことができた。また、*LFY* ホモログ遺伝子の単離・機能解析に関しては、花序形態が異なる 2 種のホトトギス植物における *LFY* ホモログ遺伝子およびそのプロモーター領域を比較することにより、花序の形態形成と *LFY* の関係について基礎的な知見を得ることができた。さらに、B クラス MADS-box 遺伝子の機能抑制に関しては、改変 ABC モデルを直接的に証明する結果が得られ、同花被花における花器官形成に関する分子メカニズムの一端を明らかにすることができた。

本研究において得られた知見は、花き園芸植物の草姿や花形に関する基礎的・応用的な研究の発展に大きく貢献すると審査委員会は評価した。特に、形質転換による改変 ABC モデルの証明は世界初の成果であり、大いに評価できる。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「*Journal of Plant Physiology*」, 「*Acta Horticulturae*」および「*Plant Biotechnology*」に掲載されている。

よって、本論文は博士 (農学) の学位論文として十分であると認定した。