

(続紙 1)

京都大学	博士 (農 学)	氏名	吉竹 良洋
論文題目	フィトクロム発色団合成酵素遺伝子 <i>Se13</i> (<i>OsHY2</i>) の機能欠損がイネの生長に及ぼす効果		
(論文内容の要旨)			
<p>生物にとって季節の変化を捉えることは、生存(繁殖)戦略上きわめて重要な意味をもつ。多くの生物は季節変化を“日の長さ(日長)”の変化によって感知しており、感知機構の解明は植物の生存戦略の解明に不可欠である。イネの花芽分化前の生育相は、発芽直後の日長に応答しない基本栄養生長相(BVP)とBVPに続く日長に応答する感光相(PSP)とに分けられる。しかし、イネが発育過程で日長応答性(感光性)を獲得する詳細な機構は不明である。本論文は、イネ品種‘銀坊主’へのγ線照射により誘発された極早生突然変異系統X61がフィトクロム発色団フィトクロモビルン(PΦB)合成酵素遺伝子の機能喪失型アレル(<i>se13</i>)をもち感光性をほぼ完全に喪失している原因を詳細に解析するとともに、イネが発育ステージ依存的に感光性を獲得する機構の解明を目的としている。</p>			
<ol style="list-style-type: none">1. X61の感光性の喪失は、第1染色体上の<i>Se13</i> (<i>OsHY2</i>: 0s01g0949400)の第1エクソン上に生じたシトシンの挿入が原因と推定されている。RACE法より<i>Se13</i>の転写産物の全長配列を決定し、X61の遺伝的背景をもち野生型<i>Se13</i>転写産物を恒常的に発現する組換えイネ(X61comp)を作出した。X61compの到穂日数は野生型の銀坊主と同程度となり、X61の表現型は野生型<i>Se13</i>によって相補されることを示した。<i>Se13</i>は、シロイヌナズナのPΦB合成酵素遺伝子<i>HY2</i>と高い相同性をもつ。PΦBの機能はフィトクロムと結合してフィトクロムに赤色/遠赤色光受容能を付与することであり、X61では銀坊主に比べて赤色/遠赤色光受容能が著しく低下した。以上のことから、X61の感光性の喪失は<i>Se13</i>がコードするPΦB合成酵素の機能欠損による赤色/遠赤色光受容能の低下に起因することを明らかにした。2. X61における赤色/遠赤色光受容能が僅かに観察されたことから、<i>se13</i>は漏出型アレルと考えられた。RNA干渉法により<i>Se13</i>の発現を抑制した日本晴(<i>Se13</i>-RNAi)は幼苗期に薄黄色を呈し致死となった。PΦBの生合成経路で活性酸素種等の産生に関与するProtoIXおよびMg-ProtoIX(Me)の蓄積量を定量した結果、Mg-ProtoIX(Me)には<i>Se13</i>-RNAiと日本晴間に有意差はなかったが、ProtoIX量は<i>Se13</i>-RNAiにおいて増大していた。ProtoIXはX61においても同程度の蓄積量が確認できたことから、経路上の代謝物の蓄積では<i>Se13</i>-RNAiの幼苗期致死を説明できなかった。赤色光によって促進されるクロロフィル含量は、<i>Se13</i>-RNAiにおいてクロロフィルa, b含量がいずれも顕著に低下した。また、<i>Se13</i>-RNAiでは赤色光受容能が低下していた。以上のことから、<i>Se13</i>発現抑制による赤色光受容能の低下が、クロロフィル含量の低下による幼苗期致死を引き起こしたと考えられた。3. <i>Se13</i>の下流で機能する遺伝子を同定するために、BVPに相当する播種後18日目(18 DAS(days after sowing))と22 DAS、およびPSPに相当する25DASと28 DASにおけるX61および銀坊主の出穂期関連遺伝子の発現を定量的PCRによって解析した。その結果、主要な感光性遺伝子<i>Hd1</i>および<i>Ghd7</i>の発現は、BVPでは銀坊主とX61間に有意差はなかったが、PSPではX61において発言量が顕著に低下した。時計遺伝子の一部(<i>OsGI</i>および<i>OsPRR</i>遺伝子群)も、PSPでX61において振幅が顕著に小さくなった。以上のことから、<i>Se13</i>はPSPにおける時計遺伝子の振幅の維持に機能している			

と推察された。X61では*Se13*の機能喪失に伴う時計遺伝子の振幅減衰により*Hd1*と*Ghd7*の発現誘導が十分できなくなることが、感光性のほぼ完全な喪失に繋がると考察した。すなわち、BVPでは赤色光に対して非依存的である時計遺伝子の振幅がPSPでは赤色光依存的となることが、BVPからPSPへの相転換に関わると結論した。

4. X61 (*se13/Ef1*) にBVPを著しく長くする*ef1* (= *ehd1*) 遺伝子を導入した系統DMG2 (*se13/ef1*) を作出し、これをX61および銀坊主 (*Se13/Ef1*) とともに京都で栽培した結果、X61は銀坊主と比較して到穂日数が約35日短く、1次および2次枝梗数が減少し穂長が短くなったが、DMG2の到穂日数は約100日、1穂あたり粒数が銀坊主とほぼ同程度となった。DMG2を北海道で栽培し、各種農業形質を調査した結果、DMG2の到穂日数は京都で栽培した場合と同程度であり、収量性も北海道における作付面積首位品種の「きらら397」並みであった。これらのことから、*se13*は長いBVPが保証される遺伝的背景下では、収量等の農業形質に負の効果を与えないことが明らかになった。

注) 論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は1頁を38字×36行で作成し、合わせて、3,000字を標準とすること。

論文内容の要旨を英語で記入する場合は、400～1,100 wordsで作成し
審査結果の要旨は日本語500～2,000字程度で作成すること。

(論文審査の結果の要旨)

イネでは日長に応じて開花が遅延する日長感応性(感光性)だけでなく、感光性を示さない幼若期の長さ(基本栄養成長性)も生殖生長への変換に関与するとされてきた。しかし、BVP(基本栄養生長相)から日長に応答できるPSP(感光相)への相転換に伴う内的要因の詳細は未解明である。本論文では、感光性を喪失した極早生突然変異系統X61の原因遺伝子*se13(OsHY2)*の機能を詳細に解析することにより、*Se13*の機能喪失によるフィトクロムへの発色団付与の阻害、すなわち赤色/遠赤色光受容能の喪失により感光性が失われる機構、ならびにBVPからPSPへの移行に伴う赤色光の役割の変化を明らかにした。評価すべき点は以下のとおりである。

1. *Se13*は、シロイヌナズナのPΦB合成酵素遺伝子*HY2*と高い相同性をもち、X61では銀坊主に比べて赤色/遠赤色光受容能が著しく低下した。以上のことから、X61の感光性の喪失は、*Se13*がコードするPΦB合成酵素の機能欠損による赤色/遠赤色光受容能の低下に起因することを明らかにした。
2. 赤色/遠赤色光受容能が低下したX61において、BVPでは主要感光性遺伝子*Hd1*および*Ghd7*の発現には影響が無くPSPで顕著に低下することを見出した。さらに、時計遺伝子の一部の振幅がX61ではPSPにおいて顕著に小さくなった。以上のことから、BVPでは赤色光に非依存性である時計遺伝子の振幅が、PSPでは赤色光依存的になることを明らかにした。
3. *se13*はBVPを長くする遺伝子と共存した場合に、収量を含む農業形質に負の影響を与えないことから、イネの中性植物化育種における新たな有用遺伝子資源になることを示した。

以上のように、本論文は、赤色/遠赤色光受容能が低下した突然変異系統X61を用いてイネのBVPからPSPへの生育相転換の機構の一端を始めて明らかにし、突然変異遺伝子*se13*が感光性を喪失した日長に中立的なイネ品種育成に有用な遺伝資源であることを示した。これらは、イネの感光性獲得機構の解明ならびに広域適応性育種に新しい可能性を拓くものであり、育種学、作物学、遺伝学、植物生理学に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士(農学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成27年2月10日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士(農学)の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。

注) 論文内容の要旨、審査の結果の要旨及び学位論文は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。

ただし、特許申請、雑誌掲載等の関係により、要旨を学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日以降(学位授与日から3ヶ月以内)