

## (論文内容の要旨)

イネの開花前発育期間は、基本栄養生長相 (BVP)、感光相および生殖生長相の 3 つの生長相に分けられる。これらの生長相はイネの地域適応性を決定する重要な要素である。例えば、低緯度地帯で栽培される日本型品種は日本の栽培品種に比べて著しく長い BVP をもつ。この特性は、一年を通じて短日条件下で栽培される低緯度地帯のイネ品種にとって、栄養生長から生殖生長への早期移行を回避して十分な栄養生長を確保するうえで重要である。しかし、これまでに同定された BVP 遺伝子が少なく、BVP の遺伝的制御機構については未解明の部分が多く残されている。本研究は、BVP に関わる突然変異遺伝子を単離・同定することにより、BVP 遺伝子が短日条件下で花芽形成開始を促進あるいは遅延する機構を解明しようとしたものである。その主な内容は以下の通りである。

1. 銀坊主に誘発された晩生突然変異系統 HS276 (約 14 日晩生化) と銀坊主との交雑 F<sub>2</sub> 集団を用いて出穂期の分離を調査したところ、早生型 (銀坊主型) 個体 : 晩生型 (HS276 型) が 219 : 72 に分離した。さらに、F<sub>2</sub> 個体別 F<sub>3</sub> 系統を用いた後代検定では、早生固定型系統 : 分離型系統 : 晩生固定型系統が 8 : 20 : 7 となり、晩生突然変異は 1 つの劣性突然変異遺伝子 *ef7* (*early flowering-7*) によって支配されていることが判明した。*Ef7* 座の染色体領域を決定するために HS276 と Kasalath との交雑 F<sub>2</sub> を用いて QTL 解析を行ったところ、染色体 6、7 および 8 に出穂期に関する QTL が検出された。染色体 7 および 8 の QTL は日本晴と Kasalath との交雑後代で見出された既知の *Hd1*、*Hd2*、*Hd4* および *Hd5* であると考えられた。これらの QTL に関して銀坊主と日本晴は同じ遺伝子型であることから、日本晴と Kasalath との交雑後代では認められなかった染色体 6 の QTL が *Ef7* 座に対応していると考えられた。さらに、染色体部分置換系統との交雑後代を用いた分離分析の結果、*Ef7* 座は染色体 6 上の DNA マーカー INDELAP0399\_6 と INDELAP3487\_2 との間、約 129kb に座乗することが明らかになった。

2. HS276 と原品種銀坊主を 12、13、14 および 15 時間の日長条件下で栽培したところ、14 時間を越えると両者はいずれも出穂が著しく遅延した。このことから、*Ef7* 座が感光性に及ぼす効果は小さいと考えられた。また、長日条件 (14 時間) から短日条件 (10 時間) への移行実験により BVP の長さを推定したところ、銀坊主が 16.0 日であったのに対して、HS276 は 30.1 日となり、*ef7* は BVP を増大する効果が大きいことが判明した。

3. HS276 の BAC クローンを作製し、*Ef7* 座を挟み込む 4 種類の DNA マーカーを用いて *Ef7* 座を含むクローンを選抜した。これら 4 マーカーをすべて含むクローンの塩基配列を調査したところ、上記 129kb の領域に存在する 15 個の推定 ORF の中で、日本晴との間に多型が認められた ORF は Os06g0142600 および Os06g0142650 のみであった。Os06g0142650 に関しては、日本晴と銀坊主間で 1 個の塩基置換による塩基多型が認められたが、HS276 と原品種間には多型が認められなかった。一方、Os06g0142600 に関しては、HS276 と銀坊主間に顕著な配列の違いが認められ、HS276 は銀坊主と比べてエクソン 4 に 2 ヶ所の 8 塩基欠失と 3 ヶ所の 1 塩基置換を有していた。これら欠失は、フレームシフトを誘発しており、HS276 では、Os06g0142600 がコードするタンパク質の 653 番目以降のアミノ酸配列が著しく変化していると考えられた。さらに、Os06g0142600 はシロイズナズナの *ELF3* と高い相同性を示すこと、また、*ELF3* がシロイズナズナにおいては花成と概日リズムに関与することから、Os06g0142600 が *Ef7* 遺伝子であると推定された。

4. 短日および長日条件で 30 日間栽培した銀坊主および HS276 の葉身から total RNA を抽出し、Os06g0142600 座の 2 つのアレル (*Ef7*、*ef7*) および出穂期関連遺伝子 *Se1*、*Ef1*、*Hd3a* および *RFT1* の発現量の日周期変化を調査した。原品種において Os06g0142600 は日長条件に関係なく、明期開始直後に発現量が最大になった後、明期に減少し暗期に再び増加する日周期を示した。長日および短日の両条件下における *Se1* と *Hd3a* の発現量は HS276 と銀坊主との間で差異が認められなかった。これに対して、*Ef1* とその下流の *RFT1* の発現量は短日条件下の HS276 において著しく低下していた。これらのことから、*Ef7* 座は短日条件下で *Ef1* および *RFT1* の発現を誘導することにより BVP を短縮していると結論された。

氏 名

袁 清波

(論文審査の結果の要旨)

イネの開花期は長日条件下で出穂開花を抑制する感光性と、感光性を獲得するまでの幼若期の長さにかかわる基本栄養生長性との組み合わせによって決定される。イネの感光性に関しては近年多くの遺伝子が単離・同定され、いずれもシロイヌナズナの日長反応経路に関与する遺伝子と類似した機能をもつことが明らかにされているが、イネの基本栄養生長性に関しては、単離・同定された遺伝子の数が少ないこと、シロイヌナズナにはない開花誘導経路であることから、その遺伝的制御機構の解明が遅れている。本研究は、基本栄養生長性に関する突然変異遺伝子を単離・同定したのち、この突然変異遺伝子とその野生型遺伝子の発現を解析するとともに、これら遺伝子の既知の重要開花関連遺伝子の発現に及ぼす効果について検討したものである。本研究の評価すべき点は以下のとおりである。

1. 出穂期突然変異系統 HS276 の晩生化は、基本栄養生長性に関与する遺伝子の劣性突然変異によること、この突然変異遺伝子は染色体 6 の短腕に座乗することを明らかにした。この領域に座乗する基本栄養生長性遺伝子が報告されていないことから、この突然変異遺伝子は新規の遺伝子であり、*ef7* と命名した。さらに、この遺伝子座の候補領域を染色体 6 上の DNA マーカー INDELAP0399\_6 と INDELAP3487\_2 との間、約 129kb に絞り込んだ。
2. HS276 の日長反応性を原品種のそれと比較し、突然変異遺伝子 *ef7* の基本栄養性に及ぼす効果がきわめて大きいこと、一方、感光性に及ぼす効果は小さいことを明らかにした。
3. *Ef7* の候補領域(129kb)内の塩基配列を日本晴 (*Ef7/Ef7*)、銀坊主 (*Ef7/Ef7*) および HS276 (*ef7/ef7*) 間で比較し、Os06g0142600 が *Ef7* 遺伝子であることを明らかにした。
4. Os06g0142600(*Ef7*)の発現は日長条件に関わらず日周期をもって変動し、*Ef1* および *RFT1* の発現を誘導すること、一方、その機能喪失アレル *ef7* は短日条件下でも長日条件下と同様に *Ef1* および *RFT1* の発現を誘導しないことを明らかにした。

以上のように、本研究は、新規基本栄養生長性遺伝子 *ef7* を同定するとともに、*Ef7* 座の発現解析により、*Ef7* がイネの出穂開花誘導経路のひとつである *Ef1-RFT1* の経路を短日条件下で活性化すること、およびその劣性アレル *ef7* が日長条件とは無関係に同経路を活性化しないことを明らかにしたものであり、植物育種学、植物遺伝学、植物生理学およびそれらの応用分野の発展に寄与するところが多い。

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 21 年 2 月 16 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。