

(続紙 1)

京都大学	博士（農学）	氏名	A. S. Mohammad Mustafa Kamal
論文題目	Novel heading time genes <i>ef2</i> and <i>Efx</i> regulating the duration of pre-flowering photoperiod-insensitive growth phase in rice (イネの開花前不日長感応生育相の長さを制御する新規遺伝子 <i>ef2</i> および <i>Efx</i>)		
(論文内容の要旨)			
イネは短日植物であり、その開花期（出穂期）は栽培適応域や栽培適期を決定する重要な農業形質である。イネの出穂期は短日条件下での出穂まで日数で表される基本栄養生長性（BVG）と長日条件下での出穂まで日数から短日条件下での出穂まで日数を差し引いて求められる感光性（PS）とによって支配されている。BVGは生育初期の日長に応答しない不感光相（BVP）、日長に応答して花芽分化する感光相（PSP）、ならびに花芽分化開始後の不感光性相（PPP）との3生育相から構成されている。BVGはPSと同様、出穂期を決定する重要な特性であるが、その遺伝的制御に関する詳細は明らかになっていない。このため、BVPからPSPの移行、あるいはPSPからPPPの移行など生育相の移行に関する制御機構については未解明である。本研究は、イネ品種台中65号（T65）のBVGに関する突然変異系統T65ef2（<i>ef2</i>保有）ならびにT65の早生同質遺伝子系統T65ER21（<i>Efx</i>保有）を用いて、BVGを変更する遺伝子ならびにその機能を特定し生育相を制御する遺伝的機構を明らかに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. T65ef2、T65ER21ならびにT65を長日条件下（LP）および短日条件下（SP）で栽培して、突然変異遺伝子<i>ef2</i>（劣性遺伝子）ならびに<i>Efx</i>（優性遺伝子）の作用力を調査した。その結果、<i>ef2</i>にはLPおよびSPの両日長条件下で出穂遅延効果があることを、<i>Efx</i>にはLPおよびSPの両日長条件下で出穂促進効果があることを認めた。また、生育相に及ぼす効果を観察するために、上記3系統をLPで栽培して一定間隔でSPに移行して出穂日を調査する移行実験を行なうとともに、生長点での花芽分化開始期（PI）を観察した。その結果、<i>ef2</i>はBVPに及ぼす効果は小さく、BVP終了後からPIまでの期間の増加がBVGを延長させていた。これに対して、<i>Efx</i>はBVPの期間を短縮することによりBVGを短くしていた。以上の結果から、BVPとPSPとはそれぞれ独立した遺伝要因によって制御されることを明らかにした。			
2. T65ef2およびT65ER21をT65に野生イネ染色体断片を導入した染色体断片置換系統（CSSL）に交雑して、<i>ef2</i>および<i>Efx</i>の染色体上の位置を正確に決定した。<i>Ef2</i>遺伝子座は染色体9上の50kbの染色体領域に座乗しており、この領域には3遺伝子座（ORF）がデータベース上に登録されていた。3候補遺伝子に関して塩基配列を解析した結果、T65ef2は<i>Os09g0346900</i>の第4エクソンに4bpの欠失を有していた。したがって、<i>Os09g0346900</i>が<i>ef2</i>の候補遺伝子であると推察できた。また、<i>Efx</i>座は染色体3上の70kbの染色体領域に座乗しており、この領域にはすでに出穂促進遺伝子として<i>OsMADS50</i>座の座乗が報告されていた。塩基配列解析の結果、T65ER21は<i>OsMADS50</i>の第2イントロンに			

転移因子*mPing*挿入を保有していた。転移因子の挿入は近隣遺伝子の発現に影響を及ぼす事例があることから、*OsMADS50*が*Efx*の候補遺伝子であると推察できた。以上のように、遺伝的背景を同じくする系統を利用して複雑な遺伝をする開花期についての効率的な遺伝子解析を可能にして、転移因子による機能獲得型対立遺伝子の存在を示した。

3. *Ef2*の候補遺伝子がコードするhomeobox-like proteinとGFPの融合タンパク質がタマネギ表皮細胞で核移行したことから、*Ef2*座がコードするタンパク質は核内で転写因子として機能している可能性を確認した。また、*Ef2*の発現が葉身で高いこと、*Ef2*の機能欠損により開花促進因子*OsMADS51*ならびにその下流のフロリゲン遺伝子*Hd3a*ならびに*RFT1*の発現量が低下したことから、*Ef2*は*OsMADS51* から *Hd3a/RFT1*に至る開花誘導経路を葉身で促進していると推察された。T65ER21における*OsMADS50*の発現解析の結果、原品種T65では観察されない上流側だけの短い転写産物の発現が確認された。この短い転写産物は*mPing*挿入上流の第1エクソンに由来しており、*mPing*挿入の影響によりスプライシング位置が変化したと考えられた。転写産物にはMADS-boxドメインが含まれていることから、この領域の発現上昇により過剰に生じたMADS-boxタンパク質には出穂促進効果があると推察した。以上の結果より、BVPはフロリゲン遺伝子の発現開始時期によって決まること、PSPは葉身でのフロリゲンの発現量もしくは生長点への移行量によって大きく左右されることを明らかにした。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

イネにおける開花(出穂)のタイミングは日長や温度などの環境条件とイネの感光性(日長に対する応答性)と基本栄養生長性とによって複雑に制御されている重要な農業形質である。近年の作物ゲノム解読とそれを利用した有用形質遺伝子の同定は急速に進んでおり、イネにおいても感光性に関する遺伝的要因については多くの研究成果が得られている。これは、単子葉植物であるイネの感光性の制御機構と研究が先行する双子葉植物シロイヌナズナの日長感応性の制御機構との間に共通する部分が多いからである。一方、基本栄養生長性はイネ独自の開花制御機構であることから研究が立ち遅れている。本論文は、イネ品種台中65号およびその晩生突然変異系統T65ef2ならびに早生同質遺伝子系統T65ER21を用いて、基本栄養生長性に影響を及ぼす劣性晩生突然変異遺伝子ef2ならびに優性早生遺伝子Efxの同定ならびに機能解析を行い、基本栄養生長性の制御機構の一端を明らかにした。評価される主な点は以下の通りである。

1. イネの基本栄養生長性に関与する遺伝子の効果を分析するために、これら遺伝子の効果について基本栄養生長性を構成する3つの生育相に分けて観察した。この結果、ef2は葉身におけるフロリゲン遺伝子の発現誘導を抑制し、生育初期の不感光性相の期間に対する影響は小さいが、光に応答して花芽分化をするまでの期間を増大させる効果が顕著であった。また、Efxは生育初期の不感光相の期間を短縮するが、光に応答して花芽分化するまでの感光相に対する影響は認められなかった。以上のことから、基本栄養生長性を構成する3つの生育相、すなわち生育初期の不感光相(BVP)、光に応答して花芽分化する感光相(PSP)および花芽分化後の不感光相(PPP)の期間は個別に遺伝的制御を受けていることを初めて明らかにした。
2. 遺伝的背景が同一の材料を用いることにより、効率的に基本栄養生長性に関与する遺伝子を特定した。また、見出した遺伝子の中に転移因子挿入による機能獲得型の対立遺伝子が含まれおり、転移因子挿入による機能獲得型突然変異の具体的な事例をイネにおいて初めて示した。
3. 新たに見出された基本栄養生長性遺伝子Ef2およびEfxの機能解析を行い、BVPからPSPへの移行はフロリゲン遺伝子の葉身での発現開始時期が指標になること、PSPは葉身での花成刺激遺伝子の発現量もしくは移行する量に依存していることを示した。これらの結果から、基本栄養生長性を構成する各生育相の期間の長さを規定している要因を明らかにした。

以上のように、本論文はイネの栽培適地を決定する重要な農業形質である基本栄養生長性の制御機構の解明に繋がる多くの知見を新たに見出すとともに、転移因子が関与する機能獲得型の遺伝子の例をイネにおいて初めて見出したものであり、育種学、作物学並びに遺伝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24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。

注) Webでの即日公開を希望しない場合は、以下に公開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