【398】

氏　名（本籍）	高　田　圭　太（茨 城 県） （たかだ　けいた）
学 位 の 種 類	博　　士（農　　学）
学 位 記 番 号	博　乙　第　2285　号
学位授与年月日	平成 19 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
審 査 研 究 科	生命環境科学研究科
学 位 論 文 題 目	**Functional Analysis of Melon Ethylene Receptor Genes and its Application Possibility to the Development of Sterile Plants** （メロンのエチレン受容体遺伝子の機能解析と不稔植物開発への応用可能性）

主　査	筑波大学教授	農学博士	江　面　　浩
副　査	筑波大学教授	農学博士	西　村　繁　夫
副　査	筑波大学教授	理学博士	鎌　田　　博
副　査	筑波大学助教授	農学博士	大　澤　　良

論 文 の 内 容 の 要 旨

エチレンは，高等植物の様々な生理反応及び発達過程を制御している。植物のエチレン感受性制御に重要な役割を果たすのがエチレン受容体である。しかし，このタンパク質が植物発達に如何に機能しているか詳しく解析されていない。そこで，メロンのエチレン受容体遺伝子 *Cm-ERS1* と *Cm-ETR1* について研究を行った。

これらの遺伝子にミスセンス突然変異を導入した *Cm-ERS1/H70A* と *Cm-ETR1/H69A* を構築し，組換えタバコを作成した。これらの遺伝子を *35S* プロモーターで構成的に発現する組換えタバコは，花持ちが非組換え体に比べて 2 倍以上延長し，また，葉の黄化も遅延した。このことは，従来のシロイヌナズナエチレン受容体の機能と同様にメロンエチレン受容体も植物のエチレン感受性制御に関与することを示している。一方，これらの組換え体を詳細に解析すると，雄蕊が雌蕊より短くなる花器の構造変化，種子収量と正常花粉数の減少，草丈の減少，花弁のアントシアニン高集積，開葯遅延など多面的な表現型変化が見られた。これらの変化のうち，エチレン感受性制御により花構造変化が起こることは報告されているが，正常花粉数の減少は報告されていない。そこで，開花前の葯の組織切片を作成して観察を行い，花粉発達の様子を調べた。非組換え体では，花発達の早い段階からタペート組織の崩壊が起こり，組換え体では，タペート組織は壊れるものの，崩壊異常が観察された。これらの観察からエチレン受容体が花粉発達に関与することが新たに明らかになった。

組換え植物に対する懸念の一つは花粉飛散を介して導入遺伝子が環境中に拡散することである。この懸念に応える技術として雄性不稔化技術が期待されているが，導入遺伝子の多面効果が見られる例が多く，実用化には工夫が必要である。そこで，タペート組織特異的に発現するプロモーターに，*Cm-ERS1/H70A* を連結した遺伝子をタバコに導入し，多面効果を少なくした雄性不稔性を持つ組換え体を作出した。その結果，組換え体 10 系統中，3 系統で正常花粉が半分程度となった。その 3 系統は，花持ちが 1.5 倍から 2 倍程度に延長したが，その他の多面効果は起こらなかった。また，正常花粉が少なかった系統ではタペート組織の崩壊異常が起きていた。本研究により，タペート組織でエチレン受容体遺伝子を特異発現させる形質転換技術

が植物の不稔化に利用できることが示唆された。

この技術を実際に利用する際に，環境変化に対して安定した形質を保てるかどうかが問題となる。そこで，変異型エチレン受容体遺伝子により，花持ちの長期化，花構造の変化，および，花粉稔性の低下を示した組換えタバコを，環境が変化する特定網室で栽培し，その形質安定性を評価した。花持ち性は，全ての系統で気温が下がるほど長期化した。気温の影響は受けたものの，組換えタバコの花持ちが非組換え体よりも長い性質は常に変わらなかった。花構造は開花時期に関係なく概ね安定していた。また，全花粉数および正常花粉数の割合は，開花時期に関係なく概ね安定していた。

続いて，この技術の汎用性を調べるため，キク科であるレタスに *Cm-ERS1/H70A* を導入した。まず，組換え体を栽培室で育てた結果，組換えレタス 13 系統中 6 系統が不稔となり，2 系統でほとんど種子が取れなかった。次に，環境変化に対する不稔の安定性を調べるために，これらの組換えレタスを特定網室で栽培した。栽培室で不稔と判断された系統は，環境変化する特定網室でも不稔性を示した。これらの実験から *Cm-ERS1/H70A* を導入した組換えレタスは，一定条件下の栽培室や外界の影響を受ける特定網室で栽培しても，安定して不稔となり，ナス科のタバコだけでなく，キク科のレタスにおいても *Cm-ERS1/H70A* 遺伝子が不稔性を誘導することが確認できた。

審 査 の 結 果 の 要 旨

植物のエチレン受容体遺伝子は，エチレン感受性制御に重要な機能を果たしていることは知られているが，植物発達に対する具体的な役割については詳細に解析されていない。本研究では，始めに，エチレン受容体の植物発達に対する役割を解析する目的で変異型メロンエチレン受容体遺伝子を構築し，組換えタバコを作成した。そして，その発達を詳細に観察したところ，エチレン受容体がタバコの花粉発達に関与すること，具体的にはエチレン感受性を低下することで，葯のタペート組織の異常を引き起こし，花粉発達を抑制できることを見いだした。続いて，この遺伝子を使って誘導した不稔性が環境変化に対して安定であること，更にはタバコ以外の植物でも変異型エチレン受容体遺伝子を導入することで同様の変化を誘導できることを示した。

以上のように，本研究は，エチレン受容体が植物の花粉発達に関与するという新たな機能を発見し，その機構を遺伝子組換え植物の改良に利用できることを示唆した論文で，基礎研究としても，応用研究としても大変高く評価される。

よって，著者は博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。