

氏名（本籍）	仁木 智哉（東京都）		
学位の種類	博 士（農学）		
学位記番号	博 甲 第6732号		
学位授与年月日	平成25年11月30日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	Molecular Mechanisms Underlying Cytokinin-induced Ornamental Flower Morphology and Its Application in Breeding —Using Torenia as a Model Floricultural Plant— (サイトカイニンによる装飾的な花形の誘導機構の解明と育種への応用に関する研究 —トレニアをモデル系として—)		
主 査	筑波大学教授（連係大学院）	博士（農学）	西島 隆明
副 査	筑波大学教授（連係大学院）	博士（農学）	大宮 あけみ
副 査	筑波大学准教授（連係大学院）	農学博士	中山 真義
副 査	筑波大学准教授	博士（農学）	福田 直也

## 論 文 の 要 旨

花の形は花きの観賞価値を左右する重要な形質のひとつである。しかし、花形の変異拡大法として広く用いられる突然変異育種では、目的の花形を得るには長い年月を要することから、効率的な花形改良技術の開発が望まれている。一方、サイトカイニンを酸化分解するサイトカイニン酸化酵素（CKX）の阻害剤であるホルクロルフエニユロン（CPPU）をつばみに処理することにより、花壇用花きとして広く用いられるトレニア（*Torenia fournieri* Lind.）において、副花冠、花弁周縁の鋸歯など、観賞価値の高い装飾的な花形が誘導されるが、その種類はCPPU処理時の花芽の発達ステージに依存して規則的に決定される。そこで本研究では、まず、CPPU処理したトレニアにおいて装飾的な花形が発生する分子機構を解明し、その知見に基づいて、サイトカイニン生合成酵素遺伝子を利用した遺伝子組換えによる効率的な花形改良技術の開発を試みた。

まず、CPPU処理による花芽内のサイトカイニンの蓄積部位と花形変化との関係を解析するために、サイトカイニンのシグナル強度に応じて発現量が変化する*type-A response regulator* 遺伝子（*TfRR1*）およびCKX遺伝子（*TfCKX5*）の発現解析を行った。*TfRR1*および*TfCKX5*は、いずれの花器官においても、CPPU処理後1日目から発現が大きく上昇し、花芽にCPPU処理による初期の形態変化が認められる5日目まで高い発現が維持された。*in situ* ハイブリダイゼーションによる解析の結果、両遺伝子とも、花弁と類似した形態の幅広い副花冠が誘導されるが、片伸長期の花芽にCPPU処理した場合には、副花冠の発生位置である雄ずい原基の背軸側で強い発現が見られ、雄ずいに近い形態の細長い副花冠が誘導される花弁伸長初期の花芽にCPPU処理した場合には、雄ずいの基部ならびに副花冠の発生位置である花弁の基部から中央部にかけて強い発現が見られた。一方、花弁の鋸歯が誘導される花弁伸長中期の花芽にCPPU処理した場合には、鋸歯が形成される花弁の中央部から先端部にかけて強い発現が見られた。

CPPU処理したトレニアで誘導される副花冠に、幅広いものと細長いものの2種類が存在する原因を明らかにするために、詳細な形態観察および花器官ホメオティック遺伝子の発現解析を行った。幅広い副花冠では、表皮細胞および維管束の配列パターンとも花弁に近い特徴を持っていたが、細長い副花冠では、表皮細胞は花弁に近い形のものから雄ずいに近い特徴を持つものまで存在し、維管束の配列パターンは花糸に近い特徴を持っていた。花器官ホメオティック遺伝子の発現パターンは、幅広い副花冠では花弁と同様にクラスAおよびB遺伝子の発現が中心であった。これに対し、細長い副花冠ではクラスB遺伝子の発現は見られたが、クラスAおよびC遺伝子の発現は非常に低く、花弁と雄ずいの中間的な発現パターンを示した。副花冠における以上のような花器官ホメオティック遺伝子の発現パターンは、花芽内で副花冠が分化する部位の発現パターンと一致しており、副花冠の形態

が、その発生位置における花器官ホメオティック遺伝子の発現パターンによって制御されることが示された。

サイトカイニン在花芽内の部位特異的に蓄積させることによる装飾的な花形誘導の可能性を検証するために、サイトカイニン合成酵素遺伝子*AtIPT4*を、花器官特異的に発現誘導する*API*および*AP3*のプロモーターの制御下でトレニアに導入した。導入遺伝子がかく片および花弁で発現する*API::AtIPT4*の組換え体では、花弁数の増加が見られたのに対し、導入遺伝子が花弁および雄ずいで発現する*AP3::AtIPT4*の組換え体では、花冠が拡大し、副花冠が誘導され、花弁周縁に鋸歯が形成される個体が得られた。

本研究により、副花冠、花弁周縁の鋸歯等の観賞価値の高い花形が、花芽内の特定の部位におけるサイトカイニンシグナルの高まりによって誘導されることが明らかとなり、このようなサイトカイニンシグナルの分布パターンを遺伝子組換えによって再現することにより、特定の花形を計画的に誘導できることが示された。今後、これらの知見と技術は、花形の育種の効率化に役立つとともに、これまで少数に限られた種にしか存在しなかった副花冠を他の花きで誘導することにより、画期的な新品種の育成に貢献すると考えられる。

## 審 査 の 要 旨

本論文は、トレニアにおける装飾的な花形の形成機構とその誘導技術に関するもので、1) 副花冠ならびに花弁周縁の鋸歯の誘導に必要な、花芽におけるサイトカイニンシグナルの分布パターンを明らかにし、2) 花器官ホメオティック遺伝子による副花冠の形の制御機構を明らかにし、3) 遺伝子組換えによる副花冠ならびに花弁周縁の鋸歯の誘導技術開発の可能性を示したもので、いずれも初めての成果・知見である。特筆すべきは、これまで報告のなかった、花芽内のサイトカイニンシグナルの分布と花形、特に副花冠発生との関係を明らかにし、その知見に基づいて、遺伝子組換えによる花形の改変に成功したことである。これらは、園芸学、植物生理学、分子生物学を効果的に融合した学際的成果である。本研究の成果は、これまで偶発的な変異に依存することの多かった、観賞性の高い花形の育種において、計画的かつ効率的な手法を提案した意味でも高く評価できる。

平成25年9月25日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判断された。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。