

氏名(本籍)	遠藤直邦(茨城県)		
学位の種類	博士(理学)		
学位記番号	博甲第5928号		
学位授与年月日	平成23年10月31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	<b>Studies on the Effects of Flowering-time Genes to Yield-related Traits in Rice</b> (収量性形質に及ぼすイネ開花遺伝子の多面作用に関する研究)		
主査	筑波大学准教授(連)	博士(理学)	井澤毅
副査	筑波大学教授(連)	農学博士	矢野昌裕
副査	筑波大学准教授	博士(理学)	溝口剛
副査	筑波大学准教授	博士(理学)	小野道之

### 論文の内容の要旨

近年、イネの開花時期を制御する遺伝子(開花遺伝子)について多くの報告がなされ、それらの遺伝子ネットワークが明らかになってきている。*Heading date 1 (Hd1)*, シロイヌナズナ *CONSTANS (CO)* オーソログ遺伝子と *Early heading date 1 (Ehd1)* 遺伝子は共にイネの開花に重要な役割を果たしており、花成ホルモン(フロリゲン) タンパク質をコードすることが証明されている *Heading date 3a (Hd3a)*, シロイヌナズナ *FLOWERING LOCUS T (FT)* オーソログ 遺伝子の発現を制御する。これまでに、*Hd1* と *Ehd1* は短日条件では共に開花を促進するが、長日条件では *Ehd1* は開花を促進するものの *Hd1* は開花の抑制に働くことが知られている。近年、幾つかの開花遺伝子の変異体では開花時期以外の形質に影響が与えられることが報告されている。シロイヌナズナ *CO* 遺伝子の過剰発現体では木部の拡大がみられ、イネ *Grain number, plant height and heading date 7 (Ghd7)* 遺伝子は、*Ehd1* の発現を抑制することで開花を抑制する一方で一穂粒数といった収量性形質を変化させる多面作用を持つことが報告されている。しかしながら、植物にとって開花時期が変化することは植物体のサイズの変化につながり、間接的に、様々な形質が変化するので、開花遺伝子と花序組織の分化の関係を議論することは簡単ではない。

本研究は、開花遺伝子の有無が収量性形質にどのように影響を与えるかを検討した。*Hd1* と *Ehd1* 両遺伝子に機能欠損を持つ品種『台中65号』に、正常な機能アレルの *Ehd1* ゲノム断片、*Hd1* ゲノム断片を、それぞれ、遺伝子導入し、系統化、さらに、交配することで、光周性反応の異なる系統 (*Hd1Ehd1*, *hd1Ehd1*, *Hd1ehd1*, *hd1ehd1*) を作成し、様々な日長条件(短日条件と長日条件もしくはその組み合わせ)で栽培することで出穂期を様々に変化させながら栽培し、個体ごとに、栽培条件・遺伝子型と一穂毎の穂形態関連形質を比較した。その結果、短日条件で栽培した *Hd1Ehd1* 系統の一穂粒数は、栽培期間がほとんど変わらないにもかかわらず *hd1Ehd1* 系統や *Hd1ehd1* 系統よりも少なかった。また、60日間長日条件で栽培したのちに短日条件に移した処理区についてさらに調べると、ここでも *Hd1Ehd1* 系統の一穂粒数は *Hd1ehd1* 系統や *hd1ehd1* 系統よりも少ないという結果が得られた。また、これら一穂粒数の変化は一次枝梗数の減少によることが確認された。一穂粒数の変化が *Hd1* および *Ehd1* の有無によって起こったことから、その下流で働く

*Hd3a* や *Rice Flowering Locus T1 (RFT1)* 遺伝子の発現を調べた (両遺伝子は主に葉の維管束で発現するが、そのタンパク質は花芽が形成されるメリステムに運ばれて機能することが知られている)。その結果、特に *Hd3a* の花芽誘導時の葉での発現は一穂粒数の少なかった *Hd1Ehd1* 系統で高く、*hd1ehd1* では低いことが確認された。さらに、*Hd3a* 遺伝子を異所的に発現する形質転換イネを作成したところ、これらの系統は早咲きでかつ小さな穂を形成することから、*Hd3a* 等のフロリゲンの収量性形質への直接的な効果を示唆する結果も得ている。加えて、穂の形態形成に関わることが既に報告されている遺伝子について調べたところ、茎頂分裂組織 (もしくは花序分裂組織) において、幾つかの MADS box 遺伝子の発現時期が *Hd1Ehd1* 系統では他の系統に比べ早くなっている事が確認された。

以上の結果より、イネ開花遺伝子 *Hd1* と *Ehd1* は花芽誘導のタイミングを制御する一方で、花芽誘導時の葉での *Hd3a* や *RFT1* の発現制御を介して茎頂分裂組織 (もしくは花序分裂組織) における幼穂形成初期の MADS box 遺伝子の発現を制御し、その結果、一次枝梗数ひいては収量性形質の一つである一穂粒数を変化させることが示唆された。加えて、*Ghd7* が一穂粒数を変化させるかどうかについても同様に調べた。その結果 *Ghd7* が機能的な系統では一穂粒数が多いという結果が得られたが、その一方で、開花時期やバイオマスといったそのほかの形質も顕著に変化しており、一穂粒数にみられた変化が *Ghd7* 遺伝子による直接的なものであるか栽培期間が延長したことなどによる 2 次的・3 次的な効果であるのかは分からなかった。しかしながら、分けつの数に *Ghd7* の有無が大きく作用する結果となり、*Ghd7* の *Hd1* や *Ehd1* と異なる多面的な作用が見えてきている。

フロリゲンは花芽形成を誘導するシグナル物質であると考えられている。しかし本研究はフロリゲンが花芽形成を誘導する一方で、花序形成時のフロリゲン発現量の違いが、花序の形態形成の制御機構に関与するという新たな知見を提示した。これまでは、光合成産物の蓄積に起因する各器官数 (同化組織を含む) の増加やそれに伴うメリステムサイズの拡大は花序のサイズを決める要因であると考えられており、栽培期間が長くなると単純に植物体が大きくなり穂も大きくなると考えられてきた。しかしながら、今回の結果から開花時期が遅い系統では早い系統に比べ花芽形成時期に作られるフロリゲン量が少なく、そのため大きな穂が形成されたと考えられ、花序形態制御に、花芽誘導時のメリステムにおけるフロリゲン量が関与している可能性を示した。今後、フロリゲンに対するメリステムの感受性を決める分子機構を解明していくことで、開花時期を変化させずに花芽誘導時期のフロリゲンを適切に制御することで、イネの一穂粒数を増加させ、ひいては収量性を向上させる応用研究への発展が期待される。

## 審査の結果の要旨

本研究は、栄養成長期を決定している開花遺伝子が、これまで、花芽形成を誘導する能力だけが報告されているフロリゲン遺伝子の花芽誘導時の葉での転写量を制御することで、メリステムでの花芽形成に関わる遺伝子の一部の発現を通常より早いタイミングで発現させることで、一本のイネ穂に着く花の数を制御できることを示した初めての報告である。これまでは、栄養成長期間が長いと、その分、光合成からの得られたエネルギー的な余剰により大きな植物体、もしくは、大きなメリステム・原基ができることで、結果的に大きな穂ができると考えられており、実は、開花遺伝子が与えられた環境条件に応答しながらフロリゲンを発現することが、環境変動による穂のサイズの変化につながっている可能性を示したという意味で、将来的な応用につながる成果でもある。これまでは、開花遺伝子の機能変化が開花時期の変化に直結し、開花遺伝子による花芽誘導のタイミングと花芽形成を切り分けて議論することが不可能であったが、本研究では、二つの開花遺伝子の機能の組み合わせと、短日条件下と長日条件下においての栽培期間を様々に変えることで、異なる開花遺伝子機能も持ちつつ、開花期をある程度そろえる条件を見つけ、その上で、花序形成への開花

遺伝子の効果を調べた手法が秀逸である。また、花芽形成時の葉での遺伝子発現をモニターすることをメリステムの形態変化観察を併行させることで可能にし、開花遺伝子の有無に応じて、花芽誘導時の葉でのフロリゲンの発現に大きな差があることを見出したことも特筆できる。この感受されるとき発現量の違いがどこに起因するかは不明のままであり、また、開花期をそろえたといっても、場合によっては1週間ほどの開花期の差があり、この結論を弱くしている面は否めないが、そうであっても、この分野に科学的に大きな貢献をした仕事であることは間違いない。

平成23年8月4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、本論文については著者に説明を求め、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定された。よって、著者は博士（理学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。