

審査の結果の要旨

氏名 石森 元幸

八重咲きとは、普通より多くの花弁をつける花のことで、花が華やかに見えることから園芸品種として価値が高く、2000年前からその存在が記述されている。八重咲き品種には、雄ずいが花弁に転換し、花芽分裂組織の有限性が失われるホメオティック変異型と、雌雄ずいが正常な形態で稔性を維持したホール重複型とがある。シロイヌナズナなどではホメオティック変異型の八重咲きが知られている。しかし、トルコギキョウをはじめ、バラ、カーネーションなど主要花弁で一般的であるのはホール重複型である。しかし、その原因遺伝子は明らかとなっていなかった。

この研究では、トルコギキョウの全ゲノム解析と遺伝学的な解析を組み合わせ、ホール重複型八重咲きの原因遺伝子を、世界で初めて明らかにした。また、トルコギキョウが属するリンドウ目ではモデル植物が確立しておらず、遺伝子情報リソースや分子発生的な研究は極めて限られていた。そこで、トルコギキョウゲノムの解読と花器官アイデンティティ遺伝子の解析を通して、その分子進化遺伝学的特徴も明らかにした。

1. トルコギキョウのゲノム解析

長野野菜花き試から供試された八重咲き自殖系統'620'、および一重咲きの自殖系統'503'のゲノム配列を、HiSeq 2000 シーケンサー (Illumina) により解析した。合計アセンブリ長は 1.05 Gb であり、推定されたゲノムサイズは約 1.45 Gb であった。解読したゲノム中の 70% は反復配列であり、その過半は LTR 型レトロトランスポゾン (LTR-RT) であった。LTR-RT の主要なファミリーは *Copia* であり、多くの植物種ゲノムで優占的な *Gypsy* よりも広い領域を占めていた。また非 LTR-RT である LINE がゲノム中に占める割合も、他の植物種よりも高かった。ゲノム中の総遺伝子数は 38,660 個であった。この数はトマトやシロイヌナズナよりも多く、より冗長的に重複遺伝子を有していることが予期された。重複遺伝子間の分岐時間の推定から、過去に 2 回の系統特異的な全ゲノム重複 (WGD) が起きていることが示唆された。

真正双子葉植物の花器官のアイデンティティは ABCDE という 5 つのクラスの MADS-box 転写因子ファミリーによって決定される。トルコギキョウの花において発現していた MADS-box 遺伝子の解析から、18 種類の ABCDE 遺伝子ホモログが見つかった。分子系統樹解析の結果、ほぼ全てのクレードで遺伝子重複が起きていたことが推定された。ゲノム中にはさらに多数の MADS-box 遺伝子が存在しており、その一部は遺伝子重複に由来する可能性があった。重複遺

伝子の推定分岐年代は 15 MYA 付近に集中しており, WGD によって生じたことが示唆された. また 65 MYA にもリンドウ科植物に共通する可能性のある WGD の痕跡が残されていた. WGD 後に大部分の重複遺伝子は消失していった一方で, 多数の ABCDE クラス MADS-box 遺伝子は保持されてきたと考えられる.

2. トルコギキョウの八重咲き原因遺伝子の解析

'620'と'503'間の F₂集団の解析により, トルコギキョウの八重咲き性は半優性遺伝子座 *D* により制御されることが示された. つぎに, F₂個体の DNA を'八重'と'一重'の2つのバルク別にして RAD シーケンシングを行ない, 連鎖する遺伝子を検索した. その結果, シロイヌナズナの花被形成に関与する A クラス遺伝子 *APETALA2* (*AP2*) のホモログのひとつ, *EgAP2d* が *D* 遺伝子座と強く連鎖していることが明らかとなった.

八重咲きの'620'の *EgAP2d* では, microRNA172 (*miR172*) の結合モチーフに一塩基置換が起こっていた. この点突然変異は, 他の八重咲き品種にも共通して存在していた. *EgAP2d* の発現は花芽原基や各花器官原基, 花芽分裂組織に認められ, 特に'620'では花芽原基での発現が明瞭に認められた. *AP2* は C クラス遺伝子の器官特異的ナリプレッサーとしてはたらき, *AP2* の機能が低下することが C クラス遺伝子の発現を誘導し, 花の有限性を規定すると考えられている. さらに *AP2* の機能は *miR172* により抑制されることが知られている. *EgAP2d* の *miR172* 結合モチーフに変異があったことは, *miR172* による抑制が低下することを示し, この *miR172* 抵抗性変異によって, C クラス遺伝子の発現誘導が抑えられ, ホール重複型の八重咲き花となると考えられた.

これらの研究成果は, 学術上応用上寄与するところが少なくない. よって, 審査委員一同は本論文が博士 (農学) の学位論文として価値あるものと認めた.