論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※　　　第　　　号

氏　　　名　　伊ヶ﨑　知弘

論　文　題　目

スギ花粉症対策を目的とした木本植物遺伝子組換え技術の開発と花成関連遺伝子の研究

論文審査担当者

主査　　服部束穂

松本省吾

武田　真

本論文は、スギ花粉症対策として花粉アレルゲンの発現や開花を遺伝子工学的に制御するための基盤的研究の成果をまとめたものである。本研究が着手された時点において，遺伝子導入が可能な木本植物種は限定的であり，効率の高い組換え実験系が確立されている木本植物種は僅かであった。特に，スギ(*Cryptomeria japonica*)においては、培養細胞等から植物体を再生する手法が開発されておらず，遺伝子組換え体を作出できる基盤はそれまでなかった。さらに，木本植物の花芽形成のメカニズムもほとんど研究がなされておらず，花粉症対策としてスギの遺伝子組換え体を作出するにあたっては着手すべき課題が山積されていた。

このような背景のもと伊ヶ崎知弘は、以下の研究成果を得た。

１．遺伝子組換え木本植物の作出のための安定かつ効率的な植物体再生技術の開発

木本植物では、植物体再生のための安定かつ効率的な培養系が確立されていない種が多くある。スギもその一つである。伊ヶ崎は本研究において、培養細胞を誘導するための組織材料の採取時期，誘導する培地組成や植物ホルモン濃度，さらに，不定胚誘導用培地条件等について詳細に検討し、カルス経由による再現性の高いスギ植物体再生技術を世界で初めて確立した。特筆すべきは、アスパラガスで最初に同定されたペプチド性生長因子ファイトスルフォカイン（PSK）が植物体再生効率を顕著に上昇させることを発見したことである。また、スギPSK遺伝子の同定によりPSKとその信号伝達が裸子植物にも保存されていることを示した。現在では、このカルス経由再生系に基づいたスギ形質転換方法が確立し、スギ花粉症対策を視野に入れたスギ形質転換

体が作出され始めているていることから、本研究が価値ある基盤研究であると評価出来る。

２． *Agrobacterium tumefaciens* を用いた遺伝子組換え木本植物の作出技術の開発

木本植物の *A.tumefaciens* を用いた形質転換技術が限定的であったことから、マメ科木本植物のニセアカシア（*Robinia pseudoacaia*）及びヤナギ科木本植物のギンドロ（*Populus alba*）について、*A.tumefaciens* による遺伝子組換え木本植物作成技術の確立・効率化に取り組んだ。*A.tumefaciens* による *Populus* 属の形質転換についてはすでに報告があったが、本研究では、除草剤ビアラホス耐性遺伝子を直接形質転換の選択マーカーとして用いることにより、それまでのカナマシン選抜法でみらたエスケープやキメラなどの問題を解決した。ニセアカシアについては、それまで *A. rhizogenes* を用いた形質転換が報告されていたが、葉に形態異常が生じるなどの問題を抱えていた。伊ヶ崎は、本研究においてハイグロマイシン選抜の起用等により *A.tumefaciens* を介した形質転換に世界で初めて成功し、形態異常が起きない遺伝子組換えセアカシアを作出した。これらの成果は、木本植物の遺伝子工学的手法による改良や花成制御による交配育種促進技術を一歩前進させるものとして評価出来る。

３．ポプラの *FLOWERING LOCUS T*（*FT*）/*TERMINAL FLOWER 1*（*TFL1*）ファミリー遺伝子の単離及びその機能の解析

シロイヌナズナやイネなど、モデル植物を使った研究から、*FT/TFL1* ファミリーに属する遺伝子が栄養生長から生殖生長への転換のスイッチとして重要であることが知られていた。ごく最近では FT の開花ホルモンとしての地位が確立し、また、TFL はこれと拮抗する分子で

あることも明らかにされている。しかし、生殖成長に移るまでの幼若器官が極めて長く、かつ個体サイズの大きい木本類の花成制御に関しては不明な点が多かった。本研究では、*Poplus* 属のセイヨウハコヤナギ（*P. nigra* var. *italica* Koehne）から、*FT/TFL1* ファミリー遺伝子を網羅的に単離しその構造や発現を解析するとともに、シロイヌナズナにおける異所過剰発現によりその機能を評価した。セイヨウハコヤナギには、*FT/TFL1* ファミリー遺伝子が９つあり、２つは *TFL1* 遺伝子群に、５つの遺伝子は *FT* 遺伝子群に、そして残る２つの遺伝子は *MOTHER OF FT AND TFL1* および *BROTHER OF FT AND TFL1* の遺伝子群にそれぞれ属していた。*TFL1* 遺伝子群の２つは、ともシロイヌナズナにおける異所発現により花成遅延を引き起こし、４つの *FT* 群遺伝子は花成を促進した。*FT* 遺伝子群に属する *PnFT1* と *PnFT2* の２つの遺伝子は、開花の始動に関与することを予測させる生殖成長期の個体の花成誘導時期に特異的な発現パターンを示した。一方、*TFL1* 遺伝子群の１つ *PnTFL1* は、栄養生長分裂組織での発現に加え、生殖成長期においてもめったに花をつけない徒長枝での発現が花成期に上昇することを見出した。このことは、体勢が複雑な木本における花成制御を考える上で極めて興味深い。一連の研究は、木本植物における花成制御研究の示唆を与える研究で学術的に評価出来る。

　以上のように、花粉症をもたらすスギの形質転換へ向けてその再現性の高い植物体再生技術を初めて確立した点、木本類の形質転換技術の進歩に貢献した点、ならびに木本類の花成制御に関して端緒的研究を行った点において、本論文は新規性ならびに学術的価値があり、当該分野における学術研究に大きく貢献するものであることから、当審査委員会は本論文が博士（農学）の学位を授与するに十分な価値があるものと認め、合格と判定した。