

# 論文内容の要旨

申請者氏名 小宮 怜奈

一年生植物の生育ステージは、葉をつくる栄養成長期と花器官を形成する生殖成長期に大きく分類でき、栄養成長期から、生殖成長期へ転換することを花成という。花成のタイミングは、外的な要因と自律的花成を促進する内的な要因により制御されている。外的環境要因には、温度・湿度・日長等の要因が挙げられる。光周性花成は、日の長さの変化により、適した季節に花を咲かせる機構である。イネは、日が短くなると花成が誘導される短日植物で、花成を誘導する因子が *Heading date 3a (Hd3a)* であるとされている。*Hd3a* の発現は、光周性経路を介した *OsGIGANTEA (OsGI)*, *Heading date 1 (Hd1)*, *Early heading date 1 (Ehd1)* により、短日条件下で、誘導される。*RICE FLOWERING LOCUS T1 (RFT1/FT-L3)* は、*Hd3a* とアミノ酸レベルで 91% と最も高い相同性を示し、第 6 染色体上に *Hd3a* と近接し位置する。

本研究では、*RFT1* の機能を明らかにするため、1) 発育段階別発現解析 2) RNAi による機能解析 3) ChIP を用いた *RFT1* ヒストン修飾の解析を行った。発育段階別発現解析の結果、*RFT1* の発現は、*Hd3a* と比較し低いながらも、生殖成長期転換時に、特異的に発現が上昇し (短日条件)、葉身の維管束周辺で部位特異的な発現がみられた。*RFT1* は、*Hd3a* と同様の時期/部位の発現パターンを示すことから、*RFT1* は、*Hd3a* とともに開花を制御している可能性が示唆された。

*Hd3a* RNAi 個体は、野生型 (wild-type plants; WT) よりも 30 日遅れて開花したのに対し、*RFT1* RNAi 個体は、WT と同様の開花日を示したことから、短日条件下では、*Hd3a* が主な開花促進因子であることが示唆された。一方、*Hd3a* と *RFT1* の発現を同時に抑制した double *RFT1-Hd3a* RNAi 個体は、300 日経ても開花せず、栄養成長を続けたことから、*RFT1* は短日条件で開花を誘導する新規の因子であることが示唆された。また、*Hd3a* RNAi 個体の発育段階別発現解析を行ったところ、WT で通常発現の低い *RFT1* の発現が、70 日目に著しく上昇し、開花が促進した。さらに、*RFT1* の発現が上昇している 70 日目に、*RFT1* の転写開始点付近で、H3K9 アセチル化が上昇していた。一方、*RFT1* の発現の低い 35 日目には、ヒストン修飾に変化がみられないことから、*RFT1* の発現上昇には、ヒストン修飾を介したクロマチン構造の変化を伴う可能性も示唆された。*Hd3a* RNAi 個体及び double *RFT1-Hd3a* RNAi 個体における *OsMADS14* 及び *OsMADS15* の発現解析の結果、*RFT1* と *Hd3a* は、*OsMADS14* と *OsMADS15* の上流に位置することが示唆された。

*RFT1* は、*FT-like* 遺伝子の中で唯一、*Hd3a* RNAi 個体の後期のステージで開花を促進する新規の因子であること、短日条件下におけるイネの光周性花成は、*Hd3a* と *RFT1* の *FT-like* ファミリー遺伝子により制御されていることが示唆された。

# 論文審査結果の要旨

申請者氏名 小宮 怜奈

本論文は、短日植物を代表するモデル植物のイネを材料に花成制御機構の研究を行ったものである。近年、短日条件下で、花成を促進する因子が *Heading date 3a (Hd3a)* であることが同定されている。イネのゲノム中には、*Hd3a* と高い相同性を示すファミリー遺伝子が少なくとも 13 個存在し、*RICE FLOWERING LOCUS T 1 (RFT1)* は、*Hd3a* ともっとも高い相同性を示す *FT-like* 遺伝子である。しかし、*Hd3a* を含め *FT-like* 遺伝子の発現を完全に抑制した変異体はなく、*FT-like* 遺伝子のイネ開花制御機構における機能は明らかとなっていない。本論文では、RNAi を用いることにより、*Hd3a* または、*RFT1* の発現を特異的に抑制した *Hd3a* RNAi 個体、*RFT1* RNAi 個体を、また、*RFT1* と *Hd3a* の発現を同時に抑制した double *RFT1-Hd3a* RNAi 個体を作成することに成功しており、*RFT1* 及び *Hd3a* の機能解明において、偉大な成果を挙げていると考えられる。RNAi の解析により、*RFT1* は、*Hd3a* の機能が失われると、後期のステージで、開花を促進する機能を有すること、また、double *RFT1-Hd3a* RNAi 個体は、300 日経ても開花しないことから、*RFT1* と *Hd3a* は、最も重要な開花促進因子であることを報告している。また、これらの RNAi 個体を用いて、花成へ転換後、*Hd3a* や *RFT1* の下流で位置する花器官形成に関与する遺伝子を同定している。イネは、世界的な主要穀物のひとつとされ、開花時期の環境により、収量が大きく左右される。そのため、花成時期をコントロールすることは、開花後の収量に大きな影響を及ぼす。本研究では、*Hd3a* とそのファミリー遺伝子が花成を制御する主な因子であることを明らかにしたことから、今後、この *Hd3a* や *RFT1* の発現時期を人為的に制御することで、広域な地域で栽培が可能になるといった応用的に貢献する発見であると考えられる。また、本論文では、クロマチン免疫法 (ChIP) 法を用いることにより、*RFT1* の開花制御に、ヒストン修飾を介したエピジェネティックな制御が、関与している可能性を報告していることから、この *FT-like* 遺伝子の発現制御にはエピジェネティックな新規の因子による制御機構が関与する可能性を示唆するに至っている。RNAi の技術を用いることにより、イネの光周性花成を制御している要の遺伝子を特定した事は、現在、他の植物種において報告例がないことから、植物の花成制御機構の分子的基盤について非常に重要な知見をもたらした研究であると考えられる。今後、*Hd3a* と *RFT1* を軸に、二つのファミリー遺伝子に関与する新規の因子を単離、解析を進めることによって、イネ花成の全貌解明に大きく貢献するものと考えられる。以上のように、本論文は学術上、学術上、応用上貢献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 (バイオサイエンス) の学位論文として価値あるものと認めた。