

博士学位論文審査等報告書

審査委員 主査 佐藤 茂

副査 三野 眞布

副査 椎名 隆

副査 柴田 道夫

1 氏 名

野村 佳宏

2 学位の種類

博士（農学）

3 学位授与の要件

学位規程第3条第3項該当

4 学位論文題目

老化カーネーションの雌ずいのエチレン生成開始反応における
アブシジン酸の役割

5 学位論文の要旨および審査結果の要旨

【学位論文の要旨】

別紙に記載

【論文目録】

別紙に記載

【審査結果の要旨】

第1章では、カーネーション切花の老化が花自体が生成するエチレンに誘導されること、老化時の最初のエチレンが雌ずいで生成すること、及び雌ずいにおけるエチレン生成の誘導因子としてアブシジン酸（以下 ABA）が推定されてきたこと、を研究の背景として概説している。さらに、本研究の目的として、花組織における ABA 含量の変動と ABA の生合成・作用に関与する遺伝子群の発現をエチレン生成能の異なる 3 品種間で比較することにより、「雌ずいのエチレン生成開始反応における ABA の役割を検証すること」を述べている。

第2章では、遺伝子発現解析に用いる対照遺伝子として、ポリユビキチン遺伝子が適切であることを明らかにしている。花の老化は、花組織（特に花弁）の細胞が崩壊していく過程であり、RNA の急激な分解が起こる。カーネーションの花組織においても同様であり、老化関連遺伝子の発現解析に用いる適切な対照遺伝子が不明であった。そこで、ABA 関連遺伝子の発現解析に先立って、カーネーションの 7 種類のポリユビキチン遺伝子 (*DcUbq1-7*) cDNA をクローニングし、そのうちの *DcUbq3-7* の発現が開花と老化期を通じてほぼ一定であることを見だし、適切な対照遺伝子として提案している。

第3章では、ABA の生合成と作用に関与する遺伝子群の発現解析の準備として、カーネーション ‘ライトピンクバーバラ（以下 LPB）’ から、関連遺伝子群の cDNA を単離している。その内訳は、ABA の生合成関連では 5 種類 (*DcNCED1a, -b*; *DcNCED2a, -b*; *DcZEP1*)、ABA 代謝（不活性化）関連では 1 種類 (*DcCYP707A1*)、ABA の受容とシグナル伝達、作用の関連では 5 種類 (*DcPYR1*; *DcPP2C1*; *DcSnRK2.1, -2.2*; *DcABERE1*) の遺伝子である。本研究で、これらの遺伝子群をカーネーションでは初めて明らかにしている。

第4章では、3 品種のカーネーションを用いて、開花期と老化期の花各部位の ABA 含量の変動を調査し、特に子房に注目して解析している。3 品種として、老化時にエチレンを生成し約 1 週間の花持ち期間を示す ‘LPB’ と ‘エクセリア（以下 Ex）’ 及び老化時にエチレンを生成せず約 3 週間の花持ち期間を示す ‘ミラクルルージュ（以下 MR）’ を用いている。子房の ABA 含量は、‘LPB’ では開花初期に多く開花後期にかけて増加すること、‘Ex’ では開花期を通じて ‘LPB’ の 1/2 量で推移し老化初期に急激に増加すること、‘MR’ では開花・老化期を通じて ABA 含量が少ないまま推移することを明らかにしている。

第5章では、上記3品種のカーネーションにおける ABA 生合成関連遺伝子の発現を解析し、ABA 含量の変動に一致して *DcNCED1a/b* の発現が変動することを見いだしている。すなわち、子房中の *DcNCED1a/b* の転写産物量は、‘LPB’ では開花初期から多量に存在すること、‘Ex’ では開花期を通じて ‘LPB’ に比べて少ないものの老化初期に急速に増加すること、‘MR’ では開花期から老化初期を通じて少量であることを見いだした。これらの結果から、カーネーション子房内の ABA の生合成においては、*DcNCED1a/b* の発現が主要な役割を果たしていることを推定している。

第6章では、‘LPB’ と ‘Ex’ では開花期の子房で ABA が蓄積しているにも関わらずエチレン生

成が誘導されない問題点を指摘し、ABA作用系遺伝子の発現解析を試み、特にABA受容体遺伝子 (*DcPYRI*) に注目して解析している。*DcPYRI*転写産物量は、‘LPB’の子房では開花期を通じて少なく老化初期になって増加すること、‘Ex’の子房では開花期から老化初期を通して大量に存在すること、及び‘MR’の子房では開花期と老化期を通じて少ないことを明らかにした。この結果から、子房におけるエチレン生成の誘導に、ABA受容体も関与することを推定している。

第7章では、以上の実験結果を元にして、カーネーションの子房におけるエチレン生成の誘導においては、*DcNCED1a/b*の発現によるABA含量の増加とABA受容体遺伝子 (*DcPYRI*) の発現が重要な因子であることを推定している。すなわち、‘LPB’と‘Ex’の開花期においてエチレン生成が誘導されない原因として、前者ではABA受容体タンパク質量の不足、後者はABA含量の不足が推定されること、他方‘MR’では開花・老化期を通じて両方の不足が原因であると考察している。

これらの知見は、カーネーションの雌ずいにおけるエチレン生成の誘導にABAが関与していることを、既存の知見とは異なる実験手法によって明らかにしたものであり、花きの老化生理学研究における基本的な成果と見なされる。さらに、本研究の成果は、ABAの生合成や作用をターゲットにする新規の切花鮮度保持技術の開発の分野を拓くことが期待され、実用的視点からも意義深いと考えられる。よって、以上の内容は本学の博士論文として価値あるものと判断した。

6 最終試験の結果の要旨

平成26年5月23日午後1時より京都府職員研修・研究支援センター講義室において博士論文発表会を公開で行った。口頭発表後、最終試験としての質疑応答を行った。質疑応答では、遺伝子組換え手法やABA生合成・阻害薬剤を用いたABAの機能の解析の提案や、花き老化と種子発芽におけるABAとエチレンの相互作用の相違、対照遺伝子として適切なユビキチン遺伝子の選択、花きの開花と老化の研究の現状と課題などの多岐にわたる質問がなされたが的確に回答した。最終試験の結果、審査委員全員一致で合格とした。