

氏名	田中 勝
授与した学位	博士
専攻分野の名称	農学
学位授与番号	博甲第4155号
学位授与の日付	平成22年 3月25日
学位授与の要件	自然科学研究科 バイオサイエンス専攻 (学位規則第5条第1項該当)
学位論文の題目	Isolation and functional characterization of the genes expressed during storage root formation of sweetpotato (サツマイモ塊根形成過程で発現する遺伝子の単離と機能解析)
論文審査委員	教授 田原 誠 教授 白石 友紀 教授 一瀬 勇規

学位論文内容の要旨

サツマイモの塊根は、主として移植された苗の地中部分の節より生じた不定根が貯蔵根として二次的に肥大したものである。過去の生理学的な研究からサツマイモの生産能力は塊根のシンク能に強く依存していることが知られており、今後、サツマイモをさらに高い収量および付加価値を持つ作物として育成していくために、塊根形成の過程を研究することが重要であると考えられる。これまで、塊根の形成に関しては、形態学的、生理学的な研究が進んでいるものの、分子レベルでの知見は貯蔵タンパク質の蓄積やデンプンの生合成機構などを除き限られている。これは、サツマイモが自家不和合性を有する同質6倍体であり、遺伝学的な研究が困難であることが大きな要因である。本論文の研究においては、サツマイモの塊根形成過程で発現する遺伝子に着目し、その機能を分子生物学的手法で解析することにより、塊根形成過程に関する分子レベルでの知見を得ることを目的とした。

サツマイモ塊根と細根で差次的に発現する遺伝子の同定

塊根形成に関与する遺伝子の候補となる遺伝子を得るため、ディファレンシャルディスプレイ法を用いて、塊根とやや肥大した太根、および細根における遺伝子発現を比較し、差次的に発現する遺伝子のスクリーニングを行った。その結果、塊根と細根において発現量に差が見られる10種類の遺伝子 (*SRF1*~*SRF10*) が同定された。

Dof 転写因子をコードする *SRF1* 遺伝子の機能解析

Dof型の転写因子をコードする *SRF1* 遺伝子を過剰発現する形質転換体を作成して遺伝子機能を解析した結果、形質転換体において塊根の乾物率およびデンプン含量が上昇する傾向が認められた。また、遊離の糖類の含量を測定したところ、形質転換体ではグルコース・フラクトースの含量が著しく減少していた。さらに、糖の代謝に関与する酵素の活性および遺伝子発現を測定したところ、液胞型インベルターゼの活性および遺伝子発現の低下が認められた。これらの結果から、*SRF1* タンパク質が液胞型インベルターゼの発現調節を通じて、塊根における糖代謝の流れを制御していることが示唆された。Dof型の転写因子は、植物に固有の多様な生理機能に関与することが知られているが、これまでシンク器官における糖代謝の制御に関与することは知られていなかった。本研究によって明らかとなった *SRF1* の機能は Dof 転写因子の新たな役割を示唆するものと考えられる。

塊根で発現する Class I *Knotted1* 型ホメオボックス (*KNOXI*) 遺伝子の単離と機能解析

塊根の cDNA を鋳型としてディジェネレートプライマーを用いた RT-PCR を行った結果、塊根で発現する4種類の *KNOXI* 遺伝子配列 (*Ibkn1*~*Ibkn4*) が単離された。*Ibkn1*~*Ibkn4* について RT-PCR 法を用いて発現パターンを解析したところ、これらの遺伝子が塊根内で異なる発現パターンを示し、機能的に分化していることが示唆された。また、*Ibkn1*~*Ibkn4* について、塊根肥大との関連を調べるため、肥大性の異なる品種・系統を用いて発現量を解析したところ、肥大性の高い品種・系統で *Ibkn2*, *Ibkn4* が強く発現する傾向が認められた。これまで、*KNOXI* 遺伝子は通常、側根原基など一部の細胞を除いて根では発現しないとされており、根における機能としては側根形成の調節が知られているのみであった。本研究で得られた結果は、サツマイモの *KNOXI* 遺伝子、特に *Ibkn2*, *Ibkn4* が塊根の肥大に関与する可能性を示唆するものと考えられる。

論文審査結果の要旨

サツマイモは重要な食用作物であり、収量性などを飛躍的に向上させるためには、塊根形成過程の研究が重要である。しかし、サツマイモは従来の遺伝学的手法による研究が難しく、塊根に関する研究は形態学的、生理学的な内容や貯蔵デンプンなどの生合成機構などに限定されていた。

本論文研究では、サツマイモの塊根形成に関与する遺伝子を同定することとし、まず、塊根と細根で差次的に発現する遺伝子をスクリーニングした。その結果得られた遺伝子(SRF1)は、形質転換体の塊根において乾物率やデンプン含量の上昇をもたらしたが、その作用機作は、SRF1はDof型の転写因子で、塊根における液胞型インベルターゼの発現を調節することで、糖代謝の流れを変化させていることを明らかにした。

次に、塊根で発現するClass I *Knotted1*型ホメオボックス (*KNOXI*) 遺伝子を単離して、その機能解析を進めた。その結果、塊根の肥大性に関与する遺伝子 *lbkn2*, *lbkn4* を同定し、これらは、塊根における一次形成層のリグニン化を抑制して、肥大化させていることを示した。

本論文研究は、サツマイモの塊根形成に関与する遺伝子の同定、形質転換体での形質発現の調査、さらに、現れた形質変異についての分子生物学的な原因究明など、サツマイモの塊根形成に関して、分子生物学的な手法を適応して、極めて重要な知見を提供しており、博士論文研究に十分値するものと判定した。