

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 二 村 典 宏

ヤナギは、挿し木繁殖が容易で成長が早いいため短伐期の繰り返し生産に適しており、バイオエネルギー資源として注目されている。ヤナギの生産性を向上させるには育種の改良が必要だが、一般に樹木は生活史が長く交雑育種による改良は困難なため、遺伝子操作による育種が期待されている。遺伝子操作育種では導入すべき有用な遺伝子を単離・同定する必要があるが、樹木の有用遺伝子の同定、単離に関する研究は極めて限られており、ヤナギでも、バイオマス生産向上につながる遺伝子をはじめ有用遺伝子の解析は全く行われていない。従って、ヤナギの遺伝子の単離・同定は、遺伝子操作育種への道のりの上で極めて重要な一歩であると言って良い。

本論文では、ヤナギ属樹木のバイオマス生産に影響を与える環境適応性と雌雄性に焦点を合わせ、それらに関連した遺伝子を多数単離・同定し、さらにそれらの発現の特徴を時間的空間的に明らかにしている。本論文は、序論と総合討論を含め7章からなっている。

第1章の序論では、ヤナギの利用、生理学、分子生物学に関する研究をサーベイし、本論文の目的と意義について述べている。

第2章では、高温適応性の生理学的解析を述べている。カワヤナギ (*Salix gilgiana* Seemen) に様々な高温処理を施し、生理反応を測定した。その結果、カワヤナギが光合成産物の分配や組織構造、代謝といった様々なレベルの温度適応を示し、幅広い温度に適応できることを明らかにしている。さらに、適応可能な温度の範囲内であっても、急激な温度上昇に対してはそれをストレスと捉えていることを見出した。

第3章では、第2章の結果を踏まえ、高温適応性関連遺伝子の解析を述べている。カワヤナギの高温に対する応答を遺伝子レベルで解析するために、ストレス応答型の代表的なタンパク質であるDnaJホモログ3種類とHsp70のcDNAクローンを、カワヤナギの雄性花序由来のcDNAライブラリーから単離している。それぞれの遺伝子の発現を、高温処理による誘導特性、および組織特異性の面から調べ、DnaJホモログをコードする遺伝子ファミリーが、ストレス応答や発現部位に関して遺伝子ごとに役割分担していることを明らかにしている。なお、この知見は植物界で最初のものである。

第4章では、雌雄性関連遺伝子の解析を述べている。雄性生殖器官の発達に関わる遺伝子を単離する目的で、カワヤナギおよびバッコヤナギ (*Salix bakko* Kimura) の雄性花序からcDNAライブラリーを作成し、雄性花序に特異的に発現する遺伝子群を探索している。その結果、ハウスキーピング遺伝子

と考えられるもの、多糖類分解酵素（ポリガラクトナーゼ、ペクチンメチルエステラーゼ、ペクテートリアーゼ、 β -1,3-グルカナーゼ）遺伝子を多数単離同定している。

第5章では、これらの遺伝子の発現の組織特異性を調べ、カワヤナギのポリガラクトナーゼ遺伝子 (*SgPG1*, *SgPG2*, *SgPG3*, *SgPG4*) とペクチンメチルエステラーゼ遺伝子 (*SgPME1*) が成熟花粉に特異的に発現することを明らかにしている。また、これらの遺伝子自体は雌雄ともに保持していることも明らかにしている。

第6章では、カワヤナギペクテートリアーゼ遺伝子 (*SgPL1*) について、発現の組織特異性やストレス応答性について検討を行っており、*SgPL1*は雄性花序のほかに茎でも多く発現すること、発現量が葉や茎の発達段階によって調節されること、花粉では発現せず雄ずいの花糸と雌ずいの柱頭で主に発現していること、木部柔組織でも発現していること、切断傷害や浸透圧ストレスで発現が誘導されること、を明らかにしている。なお、ペクテートリアーゼ遺伝子が傷害や浸透圧ストレスにより誘導されるという知見は、植物界で最初のものである。

最後に第7章では、遺伝子組換えによるストレス耐性付与によるヤナギの改良や、花粉の不稔化による組換え遺伝子の拡散防止における、これら遺伝子の有用性について考察している。

以上のように本研究は、従来不明な点が多かった樹木遺伝子の単離・同定および発現特性について、独創的かつ有益な知見を明らかにしており、学術的かつ応用的に十分価値が高い。よって審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位を授与するのにふさわしい水準にあると判断した。