

氏名	闫 瑞
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4859号
学位授与の日付	平成25年 9月30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	トマト果実の成熟機構に関する分子生物学的研究 —マクロアレイと VIGS 法を用いた解析
論文審査委員	教授 久保 康隆 教授 加藤 謙司 准教授 中野 龍平

学位論文内容の要旨

トマト果実の成熟についてエチレン作用阻害剤 1-MCP(1-methylcyclopropan)処理および成熟不全変異体 *rin*, *nor*, *かずさ* DNA 研究所開発した DNA マクロアレイ技術を用いて, 約 11,520 遺伝子の発現パターンを網羅的に解析した。これに基づいて, 成熟関連遺伝子をスクリーニングし, エチレン, RIN, NOR 因子への依存性を調査するとともに, エチレン信号伝達系の下流に位置する転写因子を抽出した。マクロアレイ解析を用いて成熟関連遺伝子の抽出と特性解析を行ったところ, 成熟に伴って発現パターンが顕著に変化する成熟関連遺伝子を 419 個特定した。それらは, 成熟に伴い 3 倍以上増加した遺伝子 224 個, 1/3 以下減少した遺伝子 195 個から構成されていた。

マクロアレイに用いた EST のアノテーションデータ, トマトゲノムのデータベース SOL によって, 成熟関連遺伝子の機能分類を行った。成熟に伴って発現が変化する遺伝子の中で炭水化物, 脂質およびエネルギー代謝に関連する遺伝子では, その多くが成熟に伴って発現が増加し, エチレンによる直接的な制御を受けていた。一方, 光合成関連遺伝子ではほとんどが成熟に伴って発現レベルが低下し, そのごく一部の遺伝子は 1-MCP 処理に反応した。したがって, 光合成反応に関わる遺伝子の成熟に伴う低下はエチレンによる制御とエチレンとは独立したステージによる制御の両方によると考えられる。細胞壁関連遺伝子では, 成熟に伴って顕著に増加する因子として *PG*, *PL* および *mannan endo-1,4-beta-mannosidase* が, 逆に低下する因子としては *PG*, *Expansin*, *endo-1,4-beta-glucanase* がスクリーニングされた。成熟関連遺伝子の中には, シグナル伝達系に機能する遺伝子が 17 個, 成熟関連転写因子が 20 個をあった。

抽出された成熟関連転写因子の中で, 成熟に伴って発現が増加する *GRAS* と *SAHH*, 逆に成熟に伴って発現レベルが顕著に低下する因子として *BTB* と *b-ZIP* が見いだされた。それらの転写因子について, 遺伝子機能の迅速・簡易解析法である VIGS(Virus Gene Silence)法による機能解析を行った。その結果, ジベレリン信号伝達系の転写因子である *GRAS* 遺伝子を導入した個体では, 果実着色がやや抑制される傾向が示され, この転写因子が成熟制御の一翼を担っていることが示唆された。

論文審査結果の要旨

果実の成熟機構の分子・遺伝子レベルでの理解は、品質向上・流通・貯蔵技術の開発に不可欠である。トマトは、産業上、最も重要な果実であると同時に、果実研究のモデル作物と位置づけられ、全ゲノム解析や変異体の蓄積、ESTクローンの蓄積が進んでいる。本研究は、トマトを対象として成熟に関与する遺伝子を網羅的に解析した。実験には野生型トマトに加えて、成熟不全変異体 *rin*, *nor* を用い、エチレン処理およびその作用阻害剤 1-MCP(1-methylcyclopropen) の処理を行った。かずさDNA研究所開発のDNAマイクロアレイを活用し、11,520 遺伝子の解析から、成熟関連遺伝子を 419 個特定した。それらは、成熟に伴い 3 倍以上に増加した遺伝子 224 個、1/3 以下に減少した遺伝子 195 個から構成されていた。スクリーニングされた成熟関連遺伝子についてエチレン、RIN、NOR 因子への依存性を調査し、成熟に伴って発現が増加する遺伝子の多くは、高いエチレン依存性、RIN、NOR 依存性を示す一方、成熟に伴って発現が減少する遺伝子の約半分はエチレン非依存的で RIN、NOR 依存性も小さいことを示した。EST のアノテーションデータなどを基に、成熟関連遺伝子の機能分類を行い、基礎的代謝、二次代謝、植物ホルモンおよび反応、光合成、着色と細胞壁の調節など、様々な成熟に関わる生理変化について、発現パターンに基づいて関連遺伝子を整理した。その中で、成熟に伴う呼吸代謝の制御には、イソクエン酸脱水素酵素および ATP 合成酵素遺伝子が重要な因子であることを示した。また、成熟制御に重要な新規の転写因子として、*GRAS*, *b-ZIP* 遺伝子、信号伝達系因子として *SAHH*, *BNKI*, *BTB* 因子を抽出した。さらに、VIGS 法による機能解析によって、*GRAS* 遺伝子を抑制すると果実着色がやや抑制されることを見だし、この転写因子が成熟制御の一翼を担っていること示した。

これらの研究成果は、果実の成熟生理研究の基盤となり、成熟制御の新たな局面を開くことにつながるものである。したがって、本研究は、博士（農学）学位に値すると評価した。