

氏名(本籍)	中 ^{なか} 西 ^{にし} 史 ^{ふみ} (高知県)
学位の種類	博士(理学)
学位記番号	博乙第1,150号
学位授与年月日	平成8年1月31日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
審査研究科	生物科学研究科
学位論文題目	Dihydrokaempferol-7-O- β -D-glucoside Functions in Photoperiodically Induced Flower-differentiation of <i>Pharbitis nil</i> (アサガオの光周誘導の花芽分化に機能する dihydrokaempferol-7-O- β -D-glucoside)
主査	筑波大学教授 理学博士 藤伊正
副査	筑波大学教授 理学博士 猪川倫好
副査	筑波大学教授 理学博士 牧岡俊樹
副査	筑波大学助教授 農学博士 酒井慎吾

論文の要旨

本論文では、日長による花芽分化の制御機構の解明を目的とし、典型的な短日植物であるアサガオから花芽形成促進物質の単離・同定を行い、さらに同物質の植物体中での動態を明らかにしている。

まず最初に花芽形成に関わる物質の検定に要する時間を短縮するため、アッセイ系に用いたアサガオ茎頂培養系での花芽形成に特異的な生化学的マーカーの検索を行っている。花芽誘導処理後のアサガオ茎頂部におけるパーオキシダゼアイソザイムパターンの変動を等電点電気泳動及び活性染色で検出し、アサガオ芽生えでは花芽誘導暗期後7日目以降にp18.5-8.7のパーオキシダゼアイソザイム群が新たに出現すること、これらのアイソザイムは茎頂培養系でも花芽形成に平行して茎頂に出現することを明らかにした。更に様々な阻害実験を行い、これらのアイソザイム中、特にp18.5のアイソザイムは茎頂において花芽形成に伴い出現することから、花芽形成の生化学的マーカーとして利用できる可能性を示した。

次にアサガオの日長感受部位である子葉からの花芽形成促進物質の精製を行っている。バイオアッセイ系としては茎頂培養系において約半数の個体で花芽を形成する条件を新たに確立し、花芽分化の検定には形態変化に加え上記パーオキシダゼアイソザイムの出現を生化学的マーカーとして用いている。花芽誘導暗期処理後の子葉を90%エタノールで抽出し、有機溶媒分画後の各フラクションを培地に添加し、水相に花芽形成促進活性が存在することを確認した。カラムクロマトグラフィーによる分画を行った結果、促進活性は2つに別れ、子葉中には花芽形成促進物質が複数存在していることを明らかにしている。1つの活性画分について更に分画を進め、単一の物質にまで精製することに成功した。誘導暗期処理後の子葉2万枚から単離した活性物質6.3mgについて核磁気共鳴法による解析を行った結果、フラボノイドの一種である dihydrokaempferol の配糖体であることが明らかとなった。この物質をアセチル化して解析を行った結果、結合糖はグルコースであり、その結合位置は7位であることが示された。更に質量分析法による分子量の測定や、紫外吸収の測定を行い、アサガオ子葉中の花芽形成促進物質は dihydrokaempferol-7-O- β -D-glucoside (DHK-glc) であると結論した。また DHK-glc の花芽形成促進効果の特徴として、非常に低濃度で作用すること、1個体当たりの花芽数・初花節位には影響を与えないこと、完全非誘導個体に対する花芽誘導効果はもたないことなどを明らかにしている。

花成刺激は花芽誘導条件下の葉で合成され師管を通じて茎頂へと移動すると考えられることから、種々の光周

条件下での DHK-glc の子葉及び師管液中での含量を調べ、同物質が光周誘導による花芽分化に機能しているかどうかを検討している。その結果、子葉中の DHK-glc レベルは光周条件に関わらずほぼ一定であるが、EDTA 法により採取した師管液中での DHK-glc レベルは誘導暗期により 2 倍以上も増加することを明らかにした。更に師管液中の DHK-glc レベルに対する暗期の効果を詳細に検討し、DHK-glc レベルの上昇は暗期開始後 8 時間以降に起こり、その後数時間ほぼ一定の値を示した後、暗処理前の値に戻ることを、その時間は暗期が長いほど長時間維持され、誘導暗期中に光照射を行った場合にはごく短時間の内に元の値に戻ることを明らかにした。これらの結果は現在までに報告されているアサガオの花成反応の特徴を良く反映していることから、DHK-glc は光周誘導に関わる花成刺激の 1 つであると結論している。

更に、本研究で単離された DHK-glc は花芽誘導、非誘導条件に関わらず子葉中の量的差異が認められず、むしろ師管液中の量に差を示すことから、従来、光周的花芽形成に関わる制御物質は光周刺激を受けた葉で新たに合成される、あるいは合成が促進される物質であろうと想定されていたが、光周刺激が制御物質の輸送を制御するという新たな可能性を提起している。

審 査 の 要 旨

花芽形成に関わる物質として植物体から抽出・同定し、尚かつ師管液中の移動を証明したのは本研究が初めてである。現在まで光周刺激は葉での花成物質の合成を制御するものと一般に考えられてきたが、今回の結果は葉から師管への誘導段階での光周的制御の存在を新たに示唆したもので、光周誘導による花芽分化の物質レベルでの解析に新たな分野を提起したのもとしてその意義は大きい。またフラボノイドは植物の代表的な二次代謝産物であり、動物・微生物においてはその多彩な生理活性が良く調べられているものの、植物においては色素としての認識が強く、植物自身における生理的役割は明らかにされていない。本研究はフラボノイドが植物の分化に機能することを証明した数少ない研究例であり高く評価される。

よって、著者は博士（理学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。