

氏名(本籍)	おか ざき まさ てる 岡 崎 正 晃 (福 岡 県)		
学位の種類	博 士 (農 学)		
学位記番号	博 甲 第 5004 号		
学位授与年月日	平成 21 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	<b>Dissection of Melatonin Accumulation and Biosynthesis in Tomato</b> (トマトにおけるメラトニンの蓄積機構と生合成経路の解析)		
主 査	筑波大学教授	農学博士	江 面 浩
副 査	筑波大学教授	農学博士	弦 間 洋
副 査	筑波大学准教授	博士(理学)	溝 口 剛
副 査	筑波大学講師	博士(農学)	松 倉 千 昭

### 論 文 の 内 容 の 要 旨

脊椎動物の神経ホルモンであるメラトニン (*N*-acetyl-5-methoxytryptamine) は、概日リズムを調節することにより、様々な生理作用、例えば、睡眠、生殖、渡り、冬眠、羽毛の色などを制御している。植物にもメラトニンが微量に存在することが報告され、植物種を問わず存在することから、メラトニンがどのような機能を担っているか、生理機能の解析が行われている。これまでに、有糸分裂の制御、開花抑制、胚軸子葉鞘の伸長促進、根の伸長制御、側根と不定根の形成、低温による細胞死の緩和、クロロフィル分解の保護、脂質過酸化反応の軽減などといった役割が報告され、オーキシン様活性や抗酸化活性に関与していることが示唆されている。

しかし、これまで行われてきた機能解析の方法は、メラトニンを植物体に投与することにより起きる変化を観察することにより、メラトニンの機能を推測するものであり、植物体にメラトニンを投与する方法では、副次的な影響、例えば内生のポリアミンやインドール酢酸の増加といった影響を及ぼし、メラトニンの直接的な機能だけが現れた訳ではなかった。このような理由などから、植物におけるメラトニンの直接的な機能については未解明のままであり、植物発達における生理機能を明らかにするために、内生のメラトニン量を改変することにより、機能過剰株、もしくは欠損株を作出するアプローチが有効と考えた。しかしながら、メラトニンの生合成経路は植物では明らかにされておらず、メラトニン量を改変するためには、植物のメラトニン生合成経路を明らかにする必要がある。脊椎動物におけるメラトニン生合成経路は、トリプトファンから始まる4つの連続する反応が知られており、植物においても同様な生合成経路が存在することが報告されたが、メラトニンの前駆物質が *N*-アセチルセロトニンがメラトニンであるかどうかは不明であった。本研究では、植物発達におけるメラトニンの生理機能の解明を目指し、また、植物発達におけるメラトニンの基礎的データ集積として、果実発達のモデル植物であるトマト品種マイクロトムを用いて、メラトニンの器官における分布、植物発達に伴う蓄積量の詳細な調査を行い、メラトニンの生合成経路の検証を行った。

メラトニンは葉、茎、花、根、果実、種子、実生で検出されたが、特に種子や実生において多く蓄積していることが明らかとなった。また果実や葉では、発達に伴ってメラトニンの蓄積量に変化し、果実では発達

に伴い種子にメラトニンを蓄積していた。そこで、メラトニンの前駆物質と考えられる基質をトマト実生に添加してメラトニン生合成を検証した。その結果 *N*-アセチルセロトニンによりメラトニンが生合成され、メラトニンの前駆物質であることが示唆された。

*N*-アセチルセロトニンがメラトニン生合成に関与することが明らかとなったので、メラトニン生合成経路上の、セロトニンをアセチル化し *N*-アセチルセロトニンを生成する酵素、arylalkylamine *N*-acetyltransferase (AANAT) をコードする遺伝子をトマトで過剰発現させ、メラトニン蓄積量を改変することを試みた。また、メラトニン代謝を担う Indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) をコードする遺伝子も同様に遺伝子導入を行った。*AANAT*, *IDO* 相同遺伝子を植物のゲノムデータベースで探索したところ、*AANAT* 相同遺伝子は藻類の *Chlamydomonas* に、*IDO* に関してはイネで相同配列の cDNA クローンが存在比なのでこれを用いた。*CrAANAT*, *OsIDO* を Cauliflower virus 35S プロモーター下で恒常的発現するよう、*Agrobacterium* を用いてトマトに遺伝子導入を行った。得られた *CrAANAT* 過剰発現株はメラトニン量が増加し、*OsIDO* 株は減少していたので、*AANAT* はメラトニン生合成に、*IDO* はメラトニンの代謝に関与していることが示唆された。この形質転換体を利用することで、植物におけるメラトニンの生理機能解明につながると期待される。その生理機能が解明されれば、新たな生長調節物質として農業生産への利用の道が開けると考えられる。

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

申請論文は、新規の情報伝達物質・生理活性物質として注目されているメラトニンの植物発達における役割を究明するための基盤構築を行った。特に、ゲノム情報及び機能ゲノム研究ツール整備が急速に進められているトマトが植物におけるメラトニン研究の材料として有用であることを見いだした。さらに、メラトニンの前駆物質の添加実験や新規に単離したメラトニン生合成遺伝子を利用した遺伝子組換え技術によりトマトの内生メラトニン含量の制御を可能にした。また、これらの結果から植物におけるメラトニン生合成経路が動物と同様であることを示唆した。これらは学術上かつ農業上から非常に有益であり、本論文は十分に博士論文として審査に値するものと認めた。

以上のように本研究で得られた新しい知見と技術は、植物におけるメラトニン研究、さらにはその産業利用を模索する上で極めて重要であり、学術上の価値は大きい。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。