

氏名(本籍)	いま い つよし 剛(千葉県)		
学位の種類	博士(農学)		
学位記番号	博甲第5197号		
学位授与年月日	平成21年9月30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>L-Ascorbate Biosynthesis in Peach Fruit: Change in L-Ascorbate Content during Fruit Development in Relation to L-Galactose Pathway-related Gene Expression</b> (モモ果実のL-アスコルビン酸生合成: 果実発達中のL-アスコルビン酸量の変化とL-ガラクトース経路遺伝子の発現との関連)		
主査	筑波大学教授(連係大学院)	博士(農学)	森口卓哉
副査	筑波大学教授(連係大学院)	博士(農学)	山本俊哉
副査	筑波大学准教授(連係大学院)	理学博士	池谷祐幸
副査	筑波大学教授	博士(農学)	江面浩

### 論文の内容の要旨

本論文は、モモ果実におけるアスコルビン酸の含有量とその生合成に関与すると想定される主たる経路の6つの鍵酵素をコードする遺伝子の発現について果実発育時期を追って解析を行い、果実発育中のアスコルビン酸の集積パターンとその機構について考察したものである。

モモ果実(‘あかつき’)の成長は横径と重量の変化から3期に分けられることを示した。一方、アスコルビン酸については、果実中の総量の変化からAsc IからAsc IVの4つの時期に分けられ、果実の成長パターンとは異なること、さらには果実発達に伴って、グラム新鮮重当たりのモモ果実のアスコルビン酸含量が減少することを示した。

続いて、未熟果実または成熟果実への合成中間物質の投与によるアスコルビン酸含量の変化を調べた。その結果、ガラクトース経路の中間物質を与えた時に顕著にアスコルビン酸含量が増加することから、モモにおける生合成はガラクトース経路にほぼ限定されると考えられた。また、モモ成熟果ではアスコルビン酸生合成活性が未熟果に比べ低下していると考えられた。

そこで、ガラクトース経路の最終6ステップ、GDP-D-mannose pyrophosphorylase (GMPH)、GDP-D-mannose-3',5'-epimerase (GME)、GDP-L-galactose phosphorylase (GGP)、L-galactose-1-phosphate phosphatase (GPP)、L-galactose-l-dehydrogenase (GDH)、L-galactono-1,4-lactone dehydrogenase (GLDH)の酵素遺伝子をモモ果実から単離した。ゲノミックサザン解析により、GLDH以外の5つについては1コピー遺伝子と推定されたが、最終反応酵素GLDHの遺伝子は2コピー存在していることが推定された。続いて、満開後21日(Asc I)、43日(Asc II)、69日(Asc II)、91日(Asc III)、112日(Asc IV)の果実における6つの酵素遺伝子の発現をノーザンプロット法によって調べた。発現パターンから大きく2つのグループに分けられ、前半の3ステップに関与するGMPH、GME、GGPの酵素遺伝子の発現パターンは43日目をピークとして成熟につれ減少した。一方、後半の3ステップに関与するGPP、GDH、GLDHの酵素遺伝子の発現パターンは21日と

91日目の2つのピークを示した。発達初期の果実で発現が高いことは、この時期の比較的高いアスコルビン酸含量と対応していると考えられたが、成熟期（Asc IV）の果実当たりのアスコルビン酸量の急速な増加は、どの遺伝子の発現パターンとも相関がみられなかった。

果実発達に伴うグラム新鮮重当たりのモモ果実のアスコルビン酸含量の減少は、リンゴやアセロラなどよりも顕著であり、トマトやイチゴなどあまり変化のない種も多い中で特徴的である。これまでの研究で、下流のGLDHについては、過剰発現させなくても十分な酵素活性があることを示し、GDHについても同様であることが他のグループから報告されている。したがってL-ガラクトースの供給がアスコルビン酸合成の律速となっており、そのコントロールがアスコルビン酸量を左右しうると考えられた。

以上より、植物のアスコルビン酸量は極めて精緻に制御されており、関連する1遺伝子の増強で簡単に増えるものではないと考えられたが、L-ガラクトースの重要性を指摘するなど、本研究の知見が、今後の研究の基盤となり、高ビタミンC果実の作出につながることを期待される。

### 審 査 の 結 果 の 要 旨

モモ果実のアスコルビン酸含有量を高めるための知見を得るためにモモの果実におけるアスコルビン酸の集積パターンと代謝経路について生理・分子生物学的にアプローチを行ない、1) モモ果実のグラム新鮮重当たりのアスコルビン酸含量は果実の成熟に向かって減少するタイプであること、2) モモでは、マンノース、そしてガラクトースを経る合成経路が主に働いており、特に後者の経路が主であること、3) ガラクトース経路の6種類の酵素遺伝子について、果実発育期間を通してそれらの発現解析を調べたが、いずれの遺伝子の発現パターンもアスコルビン酸の集積パターンと一致しないことを示した。本研究において初めてモモ果実のアスコルビン酸の集積パターン、主合成経路が明らかとなったことは、植物におけるアスコルビン酸合成代謝の研究を進める上で重要な知見となる。今回は、鍵となるステップについては発現解析から同定することはできなかったが、“General Discussion”に書かれているように、彼自身や他の研究グループの近年の研究において、下流のGLDHやGDHについては過剰発現させなくても十分な酵素活性があることが明らかとなっている。したがってL-ガラクトースの供給がアスコルビン酸合成の律速となっており、その制御がアスコルビン酸量を左右しうる可能性があり、今後の研究の方向性を明確にすることができたことは新たな知見となる。以上のように、モモ果実のアスコルビン酸生合成の研究を介し、基盤的な情報を提案したという点で評価できる。

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して認める。