

| | | | | |
|---------|---|--------|----------|-------|
| 氏名(本籍) | きむ | ゆ | わん | (韓 国) |
| 学位の種類 | 博 | 士 | (農 学) | |
| 学位記番号 | 博 | 甲 | 第 5548 号 | |
| 学位授与年月日 | 平成 22 年 7 月 23 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 | Profiling of Miraculin Accumulation in Transgenic Tomato Fruits (遺伝子組換えトマト果実におけるミラクリン蓄積のプロファイリング) | | | |
| 主査 | 筑波大学教授 | 博士(農学) | 江 | 面 浩 |
| 副査 | 筑波大学教授 | 博士(農学) | 磯 | 田 博 子 |
| 副査 | 筑波大学教授 | 農学博士 | 宮 | 崎 均 |
| 副査 | 筑波大学准教授 | 博士(農学) | 福 | 田 直 也 |

論 文 の 内 容 の 要 旨

ミラクリンは、熱帯西アフリカ原産のミラクルフルーツが果実中に高蓄積する味覚修飾タンパク質で、酸味を甘味に変えるユニークな特性を有している。この甘味誘導機能に着目し、代替甘味料としての利用が検討されている。しかし、ミラクルフルーツが熱帯原産であること、ミラクルフルーツ自体の果実生産性が低いことなどから、ミラクリンの有効活用が進んでいない。そこで、1985年にミラクリン遺伝子が単離されたことを契機に、ミラクリンを異種生物、即ち、微生物や植物で生産する研究が行われてきている。大腸菌、酵母、麹菌など微生物を用いた研究では実用的に有効なレベルでミラクリンを生産するには至っていない。一方、植物を用いた研究では、本申請者の研究グループでトマトにおいて遺伝的に安定した状態でミラクリンを果実に高蓄積することに成功している。このような組換えトマトの産業利用に向けた次のステップとして、組換えトマト果実内での詳細なミラクリン蓄積様式に関する情報が必要になる。

本研究では、構成的プロモーターである CaMV-35S プロモーター及び果実追熟期特異的プロモーターであるトマト E8 プロモーターを使ってミラクリンを高蓄積した組換えトマト果実において、ミラクリン蓄積のプロファイリングを行った。更に、これらミラクリン高蓄積トマトを育種素材として活用する際の基盤情報を得るため、ミラクリン高蓄積トマトと遺伝的に背景の異なるトマト品種との間で F1 系統を作成し、それらの果実におけるミラクリン蓄積も同様にプロファイリングした。

CaMV-35S プロモーターを使ってミラクリンを高蓄積した組換えトマト果実においては、予想に反して、果皮部分にミラクリンが高蓄積していた。35S プロモーターは、構成的プロモーターであり、果実全体に均一にミラクリンが蓄積するものと予想された。トマトをジュースやケチャップなどに加工する場合、果実内でのミラクリン蓄積パターンを改変する工夫が必要であると考えられた。一方、果実追熟期特異的プロモーターであるトマト E8 プロモーターを使ってミラクリンを高蓄積した組換えトマト果実においては、35S プロモーターを用いた組換え体に比べて、果実全体により均一にミラクリンを蓄積しており、加工目的に適していると考えられた。

ミラクリン高蓄積トマトと遺伝的に背景の異なるトマト品種との間で作成した F1 系統におけるミラクリ

ン蓄積のプロファイリングでは、トマト果実へのミラクリン蓄積に対する遺伝的背景の影響が明確に認められた。即ち、果実の大きさを細胞数で確保する細胞数型のトマト果実でミラクリン蓄積が多く、果実の大きさを細胞サイズで確保する細胞サイズ型果実では少ない傾向が認められた。ミラクリンは、細胞内で生産された後に細胞間層に蓄積することが明らかとなっている。細胞数型品種は、細胞サイズ型品種よりも単位体積当たりの細胞間層の割合が多くなり、それが細胞数型品種でミラクリン高蓄積が起こる要因と推察された。さらに、これらの系統を用いて、導入遺伝子のホモ／ヘテロ性とミラクリン蓄積の関係を調査した結果、ホモ系統でミラクリン高蓄積が認められた。

以上により、ミラクリン高蓄積トマトの産業利用に向けた、基盤的情報に関する新たな知見が得られた。

審査の結果の要旨

申請論文は、2種類のプロモーターを使ってミラクリン遺伝子を発現した遺伝子組換えトマト果実におけるミラクリン蓄積のプロファイリングを行った。構成的に連結した遺伝子発現を誘導する35Sプロモーターを用いた組換え果実では、予想に反してミラクリンが果皮に高蓄積していた。一方、果実追熟期特異的に連結した遺伝子発現を誘導するE8プロモーターを用いた組換え体では、果実全体に均一にミラクリンを蓄積していた。さらに、組換え体と非組換え体を交配して作成したF1系統の解析から、ミラクリンの高蓄積には導入遺伝子のホモ化と導入する品種の遺伝的背景が重要であることを証明した。これらは学術的かつ技術開発的視点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、遺伝子組換えトマト果実において有用物質生産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。