

氏名（本籍）	金原 淳司 （ 茨城県 ）		
学位の種類	博 士（ 農学 ）		
学位記番号	博 甲 第6728号		
学位授与年月日	平成25年11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	<i>pe lg</i> 変異体を用いたトマトのクチクラ層の特性に関する研究		
主 査	筑波大学教授	博士（農学）	江面 浩
副 査	筑波大学教授	農学博士	大澤 良
副 査	筑波大学教授	博士（農学）	高谷 直樹
副 査	筑波大学准教授	博士（農学）	松倉 千昭

論 文 の 要 旨

トマトは世界中で毎年約2億トンが生産されており、最も生産量の多い野菜である。また、トマトは調理で加工するだけでなく、生でも食べることができ、かつ機能性成分も豊富に含まれることから、その消費量は今後更に増加していくことが見込まれる。その重要性から、トマトは古くから各地で品種改良が進められており、その用途、栽培形態に応じた多くの品種が存在する。初期の品種改良は、特に病害抵抗性を近縁野生種から導入することが大きな部分を占めていたが、近年では生産性向上、環境ストレス耐性、果実品質の向上も重要な育種目標とされ、それらの形質の原因となる遺伝子の単離、機能解析の報告が相次いでいる。この中で、トマトのクチクラ層に関する研究は特に大きく進展している分野である。クチクラ層はともに脂質からなるワックスとクチンから構成されており、一般的に、物理的損傷、環境ストレス、病害虫等から植物体内の組織を保護する機能を有している。加えて、トマト果実のクチクラ層は食味、日持ち性、機能性成分蓄積に関与することが報告されており、近年トマト果実におけるクチン生合成に関与する遺伝子や、クチクラ層に蓄積するフラボノイドの生合成を制御している遺伝子の単離が報告されている。

本研究では、トマトのクチクラ層の特性の一端を解明するため、果実の表皮に関する変異体として知られていたトマト *sticky peel light green (pe lg)* 変異体の組織学的解析、生理学的解析及び遺伝学的解析を行った。始めに、*pe lg* 変異体の葉および果実のクチクラ層構造を観察した他、クチクラ層の透過性について解析を行った。その結果、*pe lg* 変異体は果実だけでなく、葉のクチクラ層にも変異が起こっており、クチクラ層の厚さが薄くなることに加え、その透過性が向上していることがわかった。

次に、*pe lg* 変異体の分子遺伝学的解析を行い、候補遺伝子の同定を行った。まず、栽培種間の交配によって得られたF2分離集団を用いたラフマッピングによって、*pe lg* 形質の原因遺伝子が第1染色体に座乗していることを明らかにした。更に Introgression line (IL) を用いてF2分離集団でファインマッピングを行った結果、第1染色体長腕約460kbの領域まで原因遺伝子の座乗領域を絞り込んだ。そしてこの領域内に存在する *Cutin Deficient*

2(*CD2*)遺伝子におけるフレームシフト変異が *pe lg* 形質の原因であるという結論に至った。実際にアンチセンス技術により *CD2* 遺伝子を発現抑制した組換えトマトを作成したところ、組換え体では葉および果実のクチクラ層が薄くなるとともに水分透過性も上昇し、*pe lg* 変異体で見られた特性が再現された。

cd2 変異体におけるクチクラ層の欠損は、クチクラ層以外の組織においても、代謝産物の量、組成に大きな変化を引き起こす可能性がある。このことを検証するため、トマト果実を供試して代謝産物の網羅的分析を行った。その結果、*pe lg* 変異体ではガラクト脂質、フラボノイド、グリコアルカロイド、一部の糖関連代謝産物が、野生型系統よりも有意に増加していることが明らかになった。この結果から、*pe lg* 変異体では脂質や糖に関連する代謝産物の量・組成が、表皮以外の果実組織においても大きく変化していることが明らかとなり、クチクラ層形成の異常が他の代謝産物に及ぼす影響の一端をはじめて明らかにすることができた。

審 査 の 要 旨

本学位論文では、トマト果実の果皮に関する変異体として古くから知られていた *pe lg* 変異体について、組織学的解析、生理学的解析及び遺伝学的解析を行い、*pe lg* 変異体は果実だけでなく、葉のクチクラ層にも変異が起こっており、クチクラ層の厚さが薄くなることに加え、その透過性が向上していることを始めて明らかにした。さらに、分子遺伝学的解析と次世代シーケンサーを併用した研究を行い、*pe lg* 変異の原因遺伝子が *CD2* 遺伝子であることを始めて明らかにした。さらに、変異体の網羅的代謝物解析を実施し、クチクラ層の変異がガラクト脂質、フラボノイド、グリコアルカロイド、一部の糖関連代謝産物の組成と含有量に影響することを始めて明らかにした。これらの成果は、学術研究として極めて意義のある研究であると判断された。さらに、本研究により、クチクラ層に着目した品種開発を行うことにより、果実の味や日持ち性の向上、機能性成分含有量の制御、病害抵抗性や環境ストレス耐性を向上する品種開発ができることを示唆した点は、技術開発としても重要な貢献が期待される研究であると判断された。

平成25年10月10日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士(農学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。