

氏名	黄 永兴
学位の種類	博 士 ( 農学 )
学位記番号	博 甲 第 7572 号
学位授与年月日	平成 27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

Functional Analyses of Phosphoenolpyruvate Carboxykinase (PEPCK) in Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) Plant

(トマト (*Solanum lycopersicum* L.) におけるホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼ (PEPCK) の機能解明)

主査	筑波大学教授	博士 (農学)	松倉 千昭
副査	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	宮崎 均
副査	筑波大学教授	博士 (理学)	菅谷 純子

## 論 文 の 要 旨

本ホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼ (PEPCK) はオキサロ酢酸をホスホエノールピルビン酸に変換し、糖新生の初発過程を律速する酵素である。先行研究により、同酵素遺伝子は液果型果実成熟期に非常に高発現することをすることが報告されているが、PEPCK が植物生長や果実発達過程でどのような役割を担っているのかについては依然として不明な点が多い。本研究は液果型果実研究のモデル植物であるトマトを材料に、PEPCK 遺伝子を過剰発現 / 発現抑制した形質転換体トマトを作出し、その特性解析を通して PEPCK の生理機能解明に取り組んだものである。

まず、著者の所属研究室の先行研究で作出された トマト PEPCK 遺伝子 *SIPEPCK* の発現抑制形質転換体の特性解析を行った。具体的には、恒常的発現プロモーターである カリフラワーモザイクウイルス (CaMV) 35S プロモーターもしくは果実成熟期特異的 *E8* プロモーターを連結した *SIPEPCK* RNAi 形質転換体計 6 系統を用い、果実成熟過程における果実成分 (糖、有機酸) の変化および表現形質 (実生・栄養生長、果実収量等) の評価を行った。その結果、形質転換赤熟果実において糖含量が減少し、リンゴ酸含量が上昇することが明らかとなった。また、CaMV 35S プロモーターで駆動した形質転換体系統において、実生生長が抑制され、それらは特に根部で顕著であった。本実験により、赤熟果実の糖蓄積・糖酸比バランス調節に糖新生が介在し、それらの制御に PEPCK が関与していることが証明された。また、PEPCK がトマトの発芽実生生長に重要な役割を果たしていることが示された。これらの解析

と並行して、トマトゲノムデータベースを活用し、トマトにおける他の *SIPEPCK* 遺伝子ファミリーの探索を行った。その結果、非常に相同性の高い *SIPEPCK* 様配列が一つ同定されたが、発現解析の結果、殆ど転写が行われていない偽遺伝子であることが明らかとなった。このことから、本研究で解析対象としている *SIPEPCK* はトマトで機能している唯一の *PEPCK* 遺伝子であることが明らかとなった。

続いて、*PEPCK* 過剰発現の効果を検証するため、*SIPEPCK* cDNA全長を CaMV 35S プロモーターもしくは *E8* プロモーターに連結した形質転換ベクターを作製し、アグロバクテリウム法によりトマトへ形質転換を行った。得られた形質転換系統より導入遺伝子が1コピー・ホモ接合体で *PEPCK* 発現が3倍以上のエリート系統を CaMV 35S プロモーター 駆動型で4系統、*E8* プロモーター駆動型で5系統獲得した。これらの系統について、赤熟果実における果実成分（糖、有機酸）および表現形質解析（実生生長、栄養生長、果実収量等）を解析し、赤熟果実において糖含量が増加し、リンゴ酸含量が減少すること、CaMV 35S プロモーター 駆動型形質転換体において、発芽実生生長が促進されることが明らかとなった。これらは *PEPCK* 発現抑制形質転換体で得られている結果と相反する効果であることから、果実の糖・有機酸蓄積や実生生長の制御に *PEPCK* が遺伝子発現レベルで直接関与することが証明された。興味深いことに、過剰発現形質転換体の実生において外生的な糖処理によって、より強力な生長促進作用が認められた。これらの結果は、*PEPCK* の作用機作が器官によって異なり、実生では糖の利用効率に影響を及ぼしていることを示唆している。

## 審 査 の 要 旨

本研究によって、*PEPCK* がトマトの果実成熟期における糖・有機酸蓄積や、実生生長制御に重要な役割を果たすことが明らかとなった。液果型果実の糖蓄積に対する *PEPCK* の関与は、従来、遺伝子発現パターン等で間接的に示唆されるに留まっていたが、本研究において初めて全身発現制御による機能解析が行われ、直接的に証明された。また、*PEPCK* がトマトの発芽実生生長やエネルギー代謝に重要な役割を果たしていることを初めて明らかにした。多くの液果型果実において成熟期に *PEPCK* が高発現することが報告されていることから、本研究は、液果型果実の糖、有機酸蓄積を理解する上で有用な知見を提供するものと思われる。糖、有機酸は果実品質を評価する上で最重要形質の一つであることから、本研究で得られた知見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認められる。

平成27年9月29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。

## 記入例（課程博士）

(博4-2)

### 鈴木 一朗氏博士（ 農学 ） 学位論文審査報告書

氏名（本籍）	筑波 太郎（ 茨城県 ）	← 留学生の場合は、ローマ字等で記入
学位の種類	博 士（ 農学 ）	
学位記番号	博 甲 第 号	← 記入しない
学位授与年月日	平成 年 月 日	← 記入しない
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	題目が外国語の場合は（ ）書きで日本語訳を記入する。	
主査	筑波大学教授 ○○博士 氏 名	
副査		
副査		
副査	※学外者については、所属機関名及び役職名 ○○博士 氏 名	

#### 論 文 の 要 旨

論文の要旨及び審査の要旨は、約2,000字程度でまとめてください。

#### 審 査 の 要 旨

平成 年 月 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。