

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 （ 農 学 ）	氏名	近 藤 隆 之
学位授与の要件	学位規則第4条第1・2項該当		
論 文 題 目			
熱帯植物のアスコルビン酸高集積機構の解明			
論文審査担当者			
主 査	教 授	江 坂	宗 春
審査委員	教 授	実 岡	寛 文
審査委員	教 授	島 本	整
審査委員	講 師	藤 川	愉 吉
〔論文審査の要旨〕			
<p>アスコルビン酸は、動植物の生存にとって必須な生体物質で、強力な還元作用を持つことから、生体内では主に抗酸化剤として機能している。高等植物では、アスコルビン酸は高濃度に生産され、光合成時や、紫外線、乾燥、塩、高温、低温などの環境ストレス条件下で発生する活性酸素種を除去していると考えられている。また、アスコルビン酸は、酵素の補因子として、また、細胞分裂・伸長など、多様な生理機能に関与していることが示されているが、その機構については明確になっていない。</p> <p>高等植物のアスコルビン酸生合成に関しては、複数の経路がある。マンノース経路が主要経路であるが、ウロン酸経路、グロース経路、ガラクトツロン酸経路、ミオイノシトール経路も示唆されており、組織や環境条件でアスコルビン酸生合成経路が使い分けられ、調節されているものと考えられている。</p> <p>近藤隆之氏は、熱帯植物が、アスコルビン酸を大量に含んでいることに着目し、モリンガとアセロラのアスコルビン酸高集積機構の解明を目的に研究した。</p> <p>モリンガ (<i>Moringa oleifera</i>) は、北インド原産の植物で、様々な栄養素を豊富に含み、アスコルビン酸も約 10 $\mu\text{mol/gFW}$ と豊富である。一方、中南米原産の熱帯性果樹であるアセロラ (<i>Malpighia glabra</i>) は、果実に非常に高濃度 (150 $\mu\text{mol/gFW}$) のアスコルビン酸を含んでおり、その含量はレモン果実の約 20 倍にもなる。</p> <p>本研究では、モリンガおよびアセロラのアスコルビン酸高集積機構を明らかにするため、マンノース経路に関わるアスコルビン酸生合成酵素遺伝子のクローニングを行い、それらの発現を調べた。そして、特にアスコルビン酸の生合成を律速していると思われる酵素の遺伝子のプロモーター解析を行った。そして、これらの結果をもとに、熱帯植物におけるアスコルビン酸の高集積機構について考察し、本学位論文とした。</p> <p>本学位論文は、以下のような構成からなっている。</p> <p>「緒言」では、植物のアスコルビン酸の生合成や生理機能に関するこれまでの研究の歴史を紹介するとともに、本研究の背景、目的について論述されている。</p>			

第1章「モリンガにおけるアスコルビン酸生合成酵素遺伝子の構造と発現解析」では、モリンガのアスコルビン酸生合成酵素遺伝子をクローニングし、アスコルビン酸生合成酵素の mRNA 発現を解析した。GDP-L-ガラクトース ホスホリラーゼ (GGP) 遺伝子が最も高く発現し、GDP-D-マンノース ピロホスホリラーゼ (GMP) の発現も高かったことから、GGP と GMP が、モリンガのアスコルビン酸高集積において重要であることが示唆された。また、光照射によって、GGP の mRNA 発現量が著しく増加し、モリンガにおいて GGP がアスコルビン酸生合成に重要な役割を果たしている可能性を示した。

第2章「モリンガおよびアセロラのアスコルビン酸生合成酵素遺伝子プロモーターの構造と活性の解析」では、モリンガとアセロラにおいて、アスコルビン酸生合成を律速していると考えられる GGP と GMP に着目して、それら遺伝子上流域をクローニングした。モリンガとアセロラ GGP 遺伝子上流域に、光応答、および植物ホルモン応答性として知られるシス因子と相同な配列が複数確認され、アスコルビン酸生合成が光や植物ホルモンによって調節されている可能性が示唆された。シロイヌナズナのプロトプラストを用いたプロモーター解析の結果、GGP 遺伝子で、高いプロモーター活性が認められた。また、アセロラ GMP プロモーターに、これまで報告されていない新規の転写活性化シス因子の存在が示唆された。

第3章「アセロラ GMP 遺伝子の転写活性化因子の探索と解析」では、高いプロモーター活性が認められたアセロラ GMP 遺伝子の新たな転写活性化シス因子を探索した。アセロラ GMP 遺伝子のプロモーター解析により、転写開始点上流 1100 bp から 1080 bp の領域に認められるパリンドローム配列の後半領域がアセロラ GMP 遺伝子の転写活性化に関与しており、新たな転写活性化シス因子の存在を示唆した。しかし、この配列だけでは、高いプロモーター活性を示さず、下流域のシス因子も転写活性化に必要であることが示唆された。

「総合考察」では、本研究に関する総合的な討論がなされた。すなわち、本研究によって得られた結果を踏まえ、植物のアスコルビン酸の生合成・集積機構、特に、熱帯植物のアスコルビン酸高集積機構について考察された。また、今後の将来展望についても、基礎的、応用的な観点から論述された。

このように、本論文は、熱帯植物のアスコルビン酸高集積機構について、新たな知見を述べるとともに、応用学的には、アスコルビン酸強化植物の開発や、ストレス抵抗性植物の開発へと道を開くもので、大変興味深い論文と考えられる。

以上、審査の結果、本論文の著者は博士（農学）の学位を授与される十分な資格があるものと認められる。