

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 北川麻美子

トマトの日持ち性を向上させることは、最も食味に優れ、栄養価の高い状態（完熟）で収穫し、その品質を長く保持することを可能とし、廃棄率の削減という消費者側の利点以外に、収穫作業の効率の上昇、出荷から陳列・販売までのロス率の低減、さらには流通コストの削減という生産者や流通業者にとっても大きな利点を有する。本研究で用いたトマトは、果実の成熟が進まない *ripening inhibitor (rin)* 変異体と通常の成熟を示す正常型系統との交配により得られた F_1 品種で、従来品種に比べ、日持ち性が大幅に向上した品種である。この果実は最適保存条件下では収穫後 1 ヶ月以上萎びることなくその姿を保持する。

本論文は、この品種の特性を明らかにし、日持ち性の向上につながる因子を解明することにより、果実の日持ち性をコントロールする技術の開発を目指すとともに、果実一般の成熟メカニズムに関しても新たな知見を得ることを目的として行われた研究について述べたもので、序論と 3 章から構成されている。

序論では、研究の背景と種々のトマト自然突然変異体および高日持ち性を有した遺伝子組み換えトマトを紹介するとともに、本研究の意義と目的について述べている。

第一章では、さまざまな品種の *rin* ホモ変異体 (*rin/rin*) と正常型 (*RIN/RIN*) を交配して、 F_1 系統 (*RIN/rin*) の育種を行い、日持ち性、着色性に加え、食味、生産性なども勘案して 1 系統 (Kc01-6) を選抜し、*RIN/rin* 遺伝子型が果実成熟に与える影響に関して検討した結果について述べている。果実の成熟の特徴であるリコピン合成、細胞壁分解、エチレン生成に関して、生理学的特性の解析及び関連する遺伝子の発現解析を行い、リコピン合成に関して、フィトエン合成酵素をコードする *PSY* 遺伝子が *LeMADS-RIN* 遺伝子によって制御されていることを示し、*PSY* 遺伝子の転写が F_1 系統におけるリコピン合成の制限要因である可能性を示した。細胞壁分解に関してはポリガラクトナーゼ遺伝子 *PG*、 β -ガラクトシダーゼ遺伝子 *TBG4*、エクспанシン遺伝子 *LeEXPI* の発現量が F_1 系統において、正常型よりも明らかに低下していることを示し、本研究で解析した遺伝子を含め果実の軟化に関わる多くの遺伝子の発現が部分的に抑制され、その複合的な相互作用の結果として、果実軟化が抑制される可能性を示した。さらに、果実の成熟を制御するエチレンについては、エチレン合成における転写レベルでの制御により、 F_1 系統において正常型果実と比べエチレン生成の顕著な低下が見られることを示した。

第二章では、成熟果実に対する *rin* 遺伝子型の影響を解析するために、トマトの cDNA マイクロアレイを用いて桃熟期の正常型果実の遺伝子発現パターンを F_1 系統果実および *rin* 変異型果実と

比較した結果、F₁系統果実においてアレルゲンタンパク質をコードする *-fructofuranosidase* と *PG-2A* の発現量が減少していたことに着目し、F₁系統果実について低アレルゲン性の評価を行っている。F₁系統果実において、これらのアレルゲンタンパク質量が低下し、F₁系統果実においてトマトアレルギー患者血清のIgE反応性が正常型に比べ明らかに低下していた。以上より、成熟制御因子としての *LeMADS-RIN* およびその変異 *rin* 遺伝子の利用とは別に、トマト果実のアレルゲンの制御因子という新たな観点から *rin* の利用の可能性を提示した。

第三章では、RINタンパク質のMADSボックス転写因子としての機能について、直接転写を制御するターゲット遺伝子に関する知見を含め、未知な部分が多いことから、RINおよび変異型 *rin* タンパク質の機能を追究すべく、それらが認識するシス配列の探索ならびに転写活性化能の有無の可能性について検討している。その結果、正常型RINがCTA(A/T)₄TAGの配列に結合することを示し、その配列をシス領域にもつ遺伝子の転写を制御する可能性を示した。そして、第一章、第二章でRINによって発現が制御されていることを示した成熟関連遺伝子のうち、*PG*, *LeACOI*, *-fructofuranosidase* において、シス領域にCTA(A/T)₄TAGの配列が存在していることを示し、これら3遺伝子についてはRINの直接のターゲット遺伝子である可能性を示した。さらに、正常型RINが認識する配列を変異型 *rin* も認識することを示した。また、正常型RINは転写活性化能を持つが、変異型 *rin* は転写活性化能を持たず、正常型RINのC末端の27アミノ酸残基が転写活性化に重要であることを示した。以上より、*RIN/rin* 遺伝子型F₁系統における成熟関連遺伝子の転写量の変化は、変異型 *rin* が正常型RINと競合してターゲットのシス配列に結合し、それによって正常型RINの転写活性化能を阻害するためである、という可能性を示した。

以上要するに、本研究は、不完全優性の形質を示す *RIN/rin* 遺伝子型のF₁系統の解析が、複雑な果実の成熟制御機構の解明の一端となり得ることを示したもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士(農学)の学位論文として価値あるものと認めた。