

[ 別紙 2 ]

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 高橋 咲子

コエンザイムQ(CoQ)は、生物に普遍的に存在する物質である。CoQは電子伝達系でエネルギー産生に関わる必須成分であり、また生体内で抗酸化機能を担っている。CoQはベンゾキノン骨格とイソプレノイド側鎖から構成されているが、側鎖の長さは生物種によって異なり、例えばヒトは主に側鎖長10単位のCoQ10、イネは主に側鎖長9単位のCoQ9を持つ。ヒト型のCoQ10は、日本では1970年代から医薬品として使用されてきたが、近年食品や化粧品としての利用が認められたことから、CoQ10を含むサプリメントや飲料、化粧品など多数の商品が開発され人気を集めている。CoQ10はヒトの体内で合成できるが、加齢や疲労、ストレスによって細胞内濃度が減少するため、健康者であっても補給することが望ましいとされている。現在CoQ10は植物由来の原料を用いた化学合成法、または微生物を用いた発酵法、のいずれかの方法により生産されている。しかし、より低コストな方法と作物での生産が有望視されている。本研究では、遺伝子組換え技術を用いてCoQ10を高蓄積するイネの開発を目的とした。

第1章では、グルコン酸菌由来のCoQ合成酵素であるデカプレニル2リン酸合成酵素の遺伝子(*ddsA*)をミトコンドリアに局在するよう設計 (S14:*ddsA*コンストラクト) してイネ (品種: 日本晴) に導入した。その結果、イネのCoQ側鎖長が本来の9から10へ改変された。作出したS14:*ddsA*イネの種子には非形質転換体の10倍以上である12  $\mu\text{g/g}$ のCoQ10が蓄積されており、CoQ10強化イネの作出に成功した。この結果から、*DdsA*酵素を内生酵素の局在部位 (ER) とは異なる細胞内器官 (ミトコンドリア) に配置することにより、CoQ合成の代謝を目的とする方向に効率的に改変できることが示された。またCoQ10強化イネの種子では、CoQ9とCoQ10の合計量であるCoQ総量が野生型の2-3倍に増加しており、イネにおいてはポリプレニル2リン酸の合成反応がCoQ合成の律速ステップになり得ることが示唆された。一方、*DdsA*とは異なるCoQ合成ステップを触媒するPHB: ポリプレニルトランスフェラーゼ(PPT)についても、PPT遺伝子発現によるCoQ含量増加を試みたが、形質転換イネと野生型の間でCoQ含量に差違は見られず、イネにおいてはPPTが触媒するポリプレニル2リン酸のPHBへの転移反応はCoQ合成の律速ステップではないことが示された。

第2章では、CoQ10強化イネの各部位・各生育時期におけるCoQ10含量等を解析した。その結果、野生型及びCoQ10強化イネどちらも、CoQは種子中のぬか及び胚芽に主に蓄積していた。また、未熟種子1粒当たりに含まれるCoQ量は開花20日後頃に最大となった。更に、CoQ10強化イネでは根、茎、葉でもCoQ10が蓄積しており、総CoQ量が日本晴の対応する器官の値の1.3-1.7倍に増加していることが明らかになった。一方、CoQ10強化イネ

は野生型である日本晴より出穂が若干遅く、短稈の傾向が見られ、また穂数が減少しており、その結果収量が低下していた。このことから、本来の CoQ9 ではなく CoQ10 を持つことがイネの生育に影響を及ぼすことが示唆された。更に、抗酸化酵素の遺伝子を過剰発現する植物では、環境ストレスへの耐性が向上することが報告されていることから、ストレス耐性の一例として CoQ10 強化イネの耐塩性について解析を行った。その結果、CoQ10 強化イネの耐塩性は野生型と同程度であり、CoQ10 の蓄積量が十分でないことがひとつの原因であると推察された。

第 3 章では、CoQ がイネ種子中のぬか及び胚芽に主に蓄積していることを踏まえて、巨大胚系統や、デンプン合成の欠陥により胚乳部分の重量が大きく減少した変異体（デンプン合成変異体）を用いて CoQ10 強化イネを作出し、種子 CoQ10 含量の増加を試みた。巨大胚系統型及びデンプン合成変異体型の CoQ10 強化イネの種子中の CoQ10 含量は、最も多い個体で日本晴型の CoQ10 強化イネの値のそれぞれ 1.8 倍及び 2.9 倍に増加し、これらの系統を利用することにより単位種子重量中の CoQ10 含量の増加に有効であることが示された。

以上本研究では、主要作物であるイネに CoQ10 を蓄積させることに初めて成功した。本研究で開発した CoQ10 強化イネは、現在すぐに遺伝子組換え作物の実用化のための安全性評価及び環境影響性評価に着手できる状況ではないが、更に改良を進めることで食品からの十分量の CoQ10 摂取に道を開くものと考えられる。また、本研究の成果はコムギ、トウモロコシ等の他の穀類へも応用可能である。以上、本研究で得られた知見は、学術上、応用上貢献することが少なくない。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。