

論文内容の要旨

申請者氏名 Thagun, Chonprakun

トマトやタバコなどのナス科植物には毒性成分を合成、蓄積するものが多い。タバコのニコチンは代表的な毒性アルカロイドとして、生合成や制御に関する解析がなされてきた。植物特有の転写因子ファミリーAP2/ERF に属する ERF189 が、ニコチン生合成系を包括的に制御する転写因子であることが知られている。ERF189 は他の相同遺伝子とともに染色体上にクラスター化している。一方、トマトやジャガイモなどは、未成熟の実や芽などの非食組織に、ステロイドグリコアルカロイド (SGA) を多く蓄積することが知られている。SGA はコレステロールの由来する含窒素ステロイド骨格を持つアグリコンに糖鎖が付加した構造を有している。

トマトも *ERF189* と相同な6つの遺伝子 *Jasmonate-Responsive ERF (JRE)* 1-6 を持ち、タバコの場合と同様に、*JRE1-5* はゲノムの特定領域にクラスター化している。*JRE* 遺伝子はいずれもジャスモン酸(JA)処理により誘導された。特に、*JRE4* は、転写産物量も多い上に、JA のよる誘導様式や果実登熟時に発現が減少していく点において、SGA 生合成系遺伝子とよく似ていた。

JRE 遺伝子の機能を明らかにするために、*JRE4* の過剰発現形質転換トマト植物系統と、*JRE3*, *JRE4*, *JRE5* それぞれのドミナント抑制型を発現させた形質転換トマト毛状根系統を作出した。マイクロアレイを用いたトランスクリプトーム解析を行い、*JRE* 機能改変系統で発現が変化した遺伝子群を検索した。多数の SGA 生合成系遺伝子が、*JRE* の過剰発現により発現誘導され、機能抑制により発現抑制されることが分かった。*JRE* による制御は、Acetyl-CoA から始まるメバロン酸経路でもみられたが、コレステロール以降のアグリコン合成や糖鎖付加など生合成経路の後半部分がより強く制御されることが分かった。トマチンを含む SGA 量も遺伝子の発現変化を反映して増減がみられた。経路後半のより強い制御を反映し、コレステロールなどいくつかの代謝中間体の増減は SGA とは逆の傾向を示した。

SGA 生合成遺伝子 *DWF5* と *GAME4* に関して、*JRE4* の過剰発現がプロモーター活性を誘導することや、その誘導はプロモーター領域内に予想される *JRE* 結合配列に変異を導入することにより失われることなどを示した。また、*JRE* により制御される遺伝子群のプロモーター領域には、有意により多くの *JRE* 結合配列が予測されることが分かった。これらの結果から、*JRE* は転写因子として、多くの SGA 生合成系遺伝子を直接に転写活性化している可能性が示された。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 Thagun, Chonprakun

植物は、昆虫などの動物による摂食から身を守るために、有毒成分を合成、蓄積する。ジャガイモやトマトなどナス科作物の非食組織には毒性 SGA が含まれていることがよく知られている。SGA による食中毒は、しばしば報告されており、SGA を蓄積しない作物の育種が望まれている。

申請者は、SGA 生合成経路を包括的に制御する JRE 転写因子を同定した。Acetyl-CoA に始まる全生合成経路は、数十段階におよぶ長いものであるが、JRE はそのほとんどの生合成遺伝子を制御する。また、JRE は生合成遺伝子の転写を直接的に活性化していることが、いくつかの解析により示唆された。本因子のような生合成系の制御因子は、近年、いくつかの例が報告されているが、制御される遺伝子数の多い点や、知見がほとんど無かったテルペノイド系の代謝経路を制御する点などにおいて、本因子は特筆に値する。

トマト JRE は、同じナス科植物のタバコに由来する ERF189 と相同である。ERF189 遺伝子は、タバコの毒性アルカロイドであるニコチンの量を定める遺伝子座に存在し、ERF189 は転写因子としてニコチン生合成系を制御している。ニコチンはオルニチンやアスパラギン酸を前駆体とする経路により合成され、生合成経路自体は SGA とは全く異なる。異なる代謝系が、相同な転写因子による制御を受けていることを示した本研究は、生合成系がいかに進化してきたのかに示唆を与えるものである。

転写因子を用いることで、生合成系全体を標的としたより大胆な代謝改変が可能となる。JRE のより完全な機能欠損を目指すことで、SGA を蓄積しないナス科作物の分子育種への展開が望める。また、転写因子により制御される遺伝子群を精査することで、新規の生合成系遺伝子を発見できる可能性も高い。実際、本研究においても SGA の合成や輸送に関わる可能性のある多くの遺伝子が単離されている。

以上のように、本論文は植物の天然生理活性物質の生合成制御に関し、新たな知見を得たものであり、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（バイオサイエンス）の学位論文として価値あるものと認めた。