

論文内容の要旨

申請者氏名 Calumpang Carla Lenore Ferrolino

ナス科植物は、農作物から観賞用植物、薬用植物にも利用されている有用植物種で、特にトマト、ナスやトウガラシなどは、高栄養価であることや生活習慣病予防成分などを多く含むことから、世界的にも生産量が多い作物である。トマト (*Solanum lycopersicum*) は、ゲノム解読された最初の果実植物であることから、Fruit-omics と定義されるオミクス解析を用いた果実の成熟過程の一次代謝や二次 (特化) 代謝の変動解析や、近縁種や野生種との代謝種間比較解析、代謝分子育種を目指した交配ラインの解析などが行われてきた。その結果、果実の代謝に関わる化合物や遺伝子の多くが特定されてきた。一方、トマト以外のナス科作物に関しては、産生される特化代謝物や生合成遺伝子に関する知見が乏しいことから、研究を遂行するのが難しいのが現状である。また、トウガラシのフラボン配糖体やカプサンチン誘導体など、植物種特異的に産生される特化代謝物とその生合成遺伝子に関しては、未だ不明な点が多い。

本研究では、トマト果実の研究で得られた知見を他のナス科作物へ応用し、Fruit-omics 解析を行うための基盤を構築することを目的として、ナス科作物種の果実完熟過程の種間代謝比較解析を計画した。トマト、ナス、トウガラシの完熟/未完熟の果肉と果皮を対象に、高速液体クロマトグラフィー質量分析計 (LC-MS) を用いたメタボロミクス解析を実施した。トマトの研究知見をもとに、ポリフェノール類などの代謝変動を解析し、果実登熟過程において植物種に保存されて産生され共通した変動を示す代謝物群、および植物種特異的な変動を示す代謝物群を捕捉することができた。また、トウガラシの果実と果皮において、フラボン配糖体の蓄積量が著しく低下していることを見出した。さらに、トウガラシ栽培品種 6 種について同様の代謝比較解析を行った結果、完熟果実と果皮でのフラボン配糖体の蓄積量低下は、アントシアニンやカプサイシンを産生する品種と一部のパプリカで観察される特有の現象であることがわかった。さらに、観察された品種特異的な代謝変動データを起点に、フラボン類産生に関わる酸化酵素遺伝子の特定を行った。トウガラシゲノム上にコードされる酸化酵素遺伝子について、他の植物での既知フラボン合成酵素遺伝子 (FNS) およびフラバン 2-水酸化酵素 (F2H) との配列解析や、果実完熟過程での品種間の遺伝子発現比較解析を行うことで、2つの FNS 候補遺伝子を絞り込むことができた。さらに、組換え酵素活性実験や *Nicotiana benthamiana* を用いた一過性過剰発現実験により、候補遺伝子の一つである *CaFNS-b* がフラボン合成酵素遺伝子であることを実験的に同定した。また、ナス科植物の比較ゲノム解析から、*CaFNS-b* は *Capsicum* 属へ分化後、特異的に発生した機能遺伝子であることを示した。本研究の結果から、トマト以外のナス科果実作物種の機能ゲノミクスを行った例を提示することができたと考えている。

やむを得ない事由 [図書出版, 学術雑誌等への掲載, 特許・実用新案出願, 個人情報等の保護, その他 ()] により本要旨を非公表とする。

【※該当する事由に○印をすること】

論文審査結果の要旨

申請者氏名 Calumpang Carla Lenore Ferrolino

本研究では、トマト果実のオミクス研究で得られた知見を活用して、トウガラシやナスなどのナス科果実作物の Fruit-omics 解析を行うための基盤を構築することを目的として、果実完熟過程の種間代謝比較解析実験を計画した。まず、主要なナス科作物や薬用植物で特定されているポリフェノール類について、文献検索や天然物データベースから化学構造情報を収集し、得られた 282 化合物の化学構造情報から、ナス科植物レベルでのポリフェノール生合成経路の骨格を構築した。また、構築した生合成骨格から、少なくとも 50 以上の酵素反応が生合成経路に関わることを推定した。トマト、ナス、トウガラシの完熟/未完熟の果実の果肉と果皮について、液体クロマトグラフィー質量分析計 (LCMS) を用いたメタボロミクス解析を実施し、3 種に保存されている代謝変動および種特異的な代謝変動を捕捉した。得られた結果のうち、3 種で共通した増加マーカー化合物を 1 つ特定したことに加え、トウガラシの果実と果皮でフラボン配糖体類の蓄積量が著しく低下していることを見出した。さらに、色素産生や辛味、苦みや甘みが異なるトウガラシ栽培品種 6 種について同様の代謝比較解析を行った結果、完熟果実と果皮でのフラボン配糖体の蓄積量低下は、アントシアニンやカプサイシンを産生する品種と一部のパプリカで観察される特有の現象であることがわかった。次に、トマト以外のナス科果実作物種を用いた機能ゲノミクスのモデルケースとして、フラボン類産生の鍵遺伝子となるフラボン合成酵素遺伝子 (FNS) もしくはフラバン 2-水酸化酵素 (F2H) の特定を行った。観察された品種特異的な代謝変動データを構築した生合成経路に反映し、酵素反応に関わると予想される酸化酵素遺伝子について、トウガラシゲノム上の全ての酸化酵素遺伝子と他の植物での既知 FNS および F2H との配列解析を行った。また、得られた候補遺伝子について、果実完熟過程での品種間の遺伝子発現比較解析を行い、2 つの FNS 候補遺伝子を得た。さらに、組換え酵素活性実験や *Nicotiana benthamiana* を用いた一過性過剰発現実験により、候補遺伝子の一つである *CaFNS-b* がフラボン合成酵素遺伝子であることを確認した。また、ナス科植物の種間比較ゲノム解析を行い、*CaFNS-b* は *Capsicum* 属に特異的遺伝子であることを特定した。フラボンを生産する種について代謝物調査を行い、トウガラシ以外のナス科植物でも、ホウズキの果実、ペチュニアやピロードトランペット花の花弁においてもフラボン配糖体が報告されていることから、ナス科の FNS は収斂進化様の機能分化をしていることを予想した。

以上のように、本論文はトウガラシの機能ゲノミクス研究を行ったもので、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 (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。

やむを得ない事由 [図書出版, 学術雑誌等への掲載, 特許・実用新案出願, 個人情報等の保護, その他 ()] により本要旨を非公表とする。

【※該当する事由に○印をすること】