

## 学位論文審査の結果の要旨

氏名	谷口 成紀
審査委員	主査 執行 正義 ㊟
	副査 山内 直樹 ㊟
	副査 太田 勝巳 ㊟
	副査 田村 文男 ㊟
	副査 伊藤 真一 ㊟
題目	Biochemical and Genetic Studies on Functional Components in <i>Allium</i> Alien Addition Lines (ネギ属異種染色体添加系統の機能性成分に関する生化学的および遺伝学的研究)
<b>審査結果の要旨(2,000字以内)</b>	
<p><i>Allium cepa</i> L.は世界中で栽培されている重要な植物種であり、中高緯度地方での栽培に適したタマネギや低緯度地方でよく栽培されているシャロットなどの食用作物を含む。また、葉ネギは東アジア地域、特に日本、韓国および中国で重要な野菜として利用されている。野菜には一般に、ヒトの健康の保持増進に役立つ機能性成分であるビタミン類(ビタミン C 等)、ポリフェノール類や食物繊維(ペクチンやセルロース)などが含まれている。ネギ属野菜は、これらの成分の他に機能性成分として知られるフルクタンや含硫化合物(システインスルフォキシド類)を蓄積するという特徴を有している。ネギ類野菜の成分育種では、これらの機能性成分の含量を増加させる方向に遺伝的な制御を行う必要があり、関連遺伝子の座乗染色体を決定することが先ずは必要である。</p> <p>異種染色体添加系統は、染色体供与親の遺伝子やDNA マーカーの座乗染色体の決定に利用できる植物材料である。これまでに、ネギ属植物ではシャロットの染色体(1A-8A)を一本ずつ葉ネギに添加した八種類のネギ単一異種染色体添加系統(<math>2n = 2x + 1 = 17</math>, FF+1A - FF+8A, 以下「添加系統」と略記)が育成され、比較的単純な遺伝様式を示すアインザイム遺伝子や DNA マーカーについて座乗染色体が決定されてきた。本研究では、添加系統を用いて様々な機能性成分の生産に関する複雑な遺伝系の解明を試み、得られた成果を <i>A. cepa</i> のマッピング研究に適用してタマネギの成分育種に活用すること、ならびに、添加系統を直接利用した葉ネギの成分育種法を確立することを目的に様々な実験を行った。研究の成果は以下のように要約される。</p> <p><b>1) 添加系統の葉身部における炭水化物組成と多糖類の蓄積に関与する遺伝子が座乗する染色体について</b></p> <p>各添加系統の葉身部に蓄積する可溶性炭水化物であるスクロース(Suc)およびフルクタン含有量の周年変化を測定した結果、FF+2A の Suc およびフルクタン含量は年間を通じてネギより有意に低かった。糖代謝において中心的な役割を果たす Suc の代謝に関連する酵素の活性を測定したところ、春期において FF+2A の酸性インベルターゼ活性は低かったが、一方で、スクロース合成酵素(SuSy)活性の増加がみられた。また、FF+8A は冬期に Suc やフルクタンを多く蓄積する傾向を示した。FF+8A では同時期にスクロースリン酸合成酵素(SPS)の活性が増加しており、Suc 含量と SPS 活性には強い相関があることが確認された。Suc 蓄積に係わる酵素遺伝子の DNA マーカーを用いた添加系統の分析により、SuSy および SPS は 6A および 8A 染色体上に座乗することが明らかとなった。これら二つの DNA マーカーをタマネギ分離集団に適用したマッピング研究により、SuSy および SPS はそれぞれ第6と第8染色体に対応する連鎖地図上に位置することがわかり、添加系統を用いた分析と一致した結果が得られた。Suc 代謝に関連するその他の候補遺伝子のシャロット染色体への振り分けを行ったところ、1A にはスクロースリン酸ホスファターゼが、2A には SuSy と三種類のインベルターゼが、8A 染色体には中性インベルターゼがそれぞれ座乗することが明らかとなった。以上の結果から、FF+2A における糖蓄積の減少には SuSy が、FF+8A における糖蓄積の増加には SPS がそれぞれ中心的な役割を果たしていることが示唆された。</p>	

## 2) シャロット由来単一異種染色体添加が葉ネギのペクチン生産に及ぼす影響について

葉身組織のペクチン含量の周年変化を測定するために、添加系統葉身から 70%エタノール可溶性(EtOH-P)およびアルコール不溶性ペクチンの分画抽出を 2005 年 5 月から 2006 年 3 月まで二ヶ月ごとに一年間行った。その結果、FF+7A および FF+8A において、アルコール不溶性ペクチン含量が 9 月に高まり、その後、11 月に向け急速に減少することが明らかとなった。逆に、これらの系統の 11 月の EtOH-P は顕著に増加した。この EtOH-P の増加はアルコール不溶性ペクチンの分解により引き起こされていることが推察された。ペクチン分解に係わる酵素の候補遺伝子の座乗染色体の決定を試みたところ、ペクチンメチルエステラーゼが 7A に座乗することが明らかとなり、本酵素が EtOH-P の増加に関連することが示唆された。これらの結果から、ペクチン代謝に関係する重要な遺伝子がシャロットの 7A および 8A 染色体に存在していることが示唆された。

## 3) 単一異種染色体添加系統が生産する含硫化合物生産について

添加系統葉身に含まれる含硫化合物である S-alk(en)yl-L-cysteine sulfoxides (ACSOs)の含量を 2005 年 8 月から 2006 年 5 月まで三ヶ月ごとに一年間測定した結果、全ての系統において 1-プロペニル CSO が主要な ACSO であり、2-プロペニル CSO は年間を通じてほとんど生産されていないことが明らかとなった。対照区のネギと比較して、FF+3A と FF+7A では全 ACSO に占めるメチル CSO の割合が大きく増加しており、メチル CSO の生産に関連する何らかの遺伝子が 3A および 7A 染色体上に存在することが示唆された。FF+3A, FF+4A, FF+5A および FF+8A では、それぞれ異なる生育時期に ACSO 含量の増加が確認された。硫黄同化は含硫化合物の生成に重要であるが、その経路で働く酵素の候補遺伝子の座乗染色体の決定を試みたところ、APS レダクターゼが 2A 染色体上に座乗することが明らかとなった。これらの結果から、ACSO 生産の促進に重要な働きをもつ遺伝子が 2A, 3A, 4A, 5A および 8A 染色体上に存在することが示唆された。

## 4) シャロット由来単一異種染色体添加が葉ネギのポリフェノール生産に及ぼす影響について

添加系統葉身に含まれるポリフェノール含量の周年変化を測定した結果、FF+2A, FF+5A, FF+6A および FF+8A において、対照区のネギと比べてポリフェノール含量が著しく増加することが明らかとなった。この結果から、ポリフェノール生産に係わる重要な遺伝子が 2A, 5A, 6A および 8A 染色体上に分散して存在することが示唆された。

## 5) シャロットの 1A 染色体を有する4倍数性ネギ重複異種染色体添加系統の作出とその高ビタミン C 含有葉ネギ育種への利用

添加系統葉身に含まれるビタミン C(アスコルビン酸)の周年変化を 2 年間測定した結果、FF+1A, FF+2A および FF+8A においてアスコルビン酸含量の増加が認められた。特に FF+1A におけるアスコルビン酸の増加が顕著であった。優良な形質を示す単一異種染色体添加系統を葉ネギ育種に直接利用することは、後代への異種染色体の伝達が不安定なため困難とされてきた。そこで、異種染色体の後代への伝達率を向上させるために、高アスコルビン酸生産系統である FF+1A の染色体を倍加して、1A 染色体を一つもつ重複異種染色体添加四倍体系統( $2n = 4x + 2 = 34$ )の作出を試みた。コルヒチンを含む MS 培地を用いて FF+1A の茎頂培養を行い、5 個体の 1A 重複異種染色体添加系統(FFFF+1A1A)が作出された。この FFFF+1A1A の花粉稔性および種子稔性はかなり低かったが、次代を残すにあたって十分な生殖能を有していた。FFFF+1A1A を用いた自殖後代 (S1) およびネギとの正逆交雑により得られた後代(BC1)は、すべて 1A 染色体を有していた。さらに、得られた BC1 の 64%は、1A 染色体を一本もつ単一異種染色体添加三倍体系統( $2n = 3x + 1 = 25$ , FFF+1A)であった。これらの FFF+1A は、生育が旺盛であり、さらに、アスコルビン酸を豊富に含むという農業生産上好ましい性質をもっていた。以上より、優良な形質を示す異種染色体添加系統の葉ネギ育種への直接的な利用が可能となった。

本研究の結果から、それぞれの機能性成分の含量の増加に係わる数種類の遺伝子が複数のシャロット染色体上に散在していることが明らかとなった。この中のいくつかの遺伝子については *A. cepa* の連鎖地図上での所在が明らかとなり、マーカー選抜技術を介したタマネギ育種へ利用が見込まれる。また、染色体倍加手法を用いることで、優良な形質をもつ添加系統を葉ネギの成分育種へと利用することが可能となった。したがって、目的とする機能性成分ごとに八種類の添加系統を使い分けることで、特定の機能性成分だけを増強した葉ネギの育種が可能になると考えられる。これにより、消費者の細かなニーズに個別に対応できる葉ネギ品種を育種できる新たな可能性が開かれたといえよう。

以上のように、得られた遺伝情報や植物材料は、*Allium cepa* L. のゲノム研究の進展、ならびに、シャロット由来優良遺伝子をもつ新たな葉ネギ品種の開発に貢献するものである。審査委員会は、本論文の内容を評価し、学位論文として十分価値を有するものと判断した。