HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	タマネギ鱗茎の品種間差に及ぼすフルクタン代謝メカニズムの研究［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	奥, 聡史
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第13592号
Issue Date	2019-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/74014
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Satoshi_Oku_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称　博　士（農学）　　氏名　奥　聡史

審査担当者	主　査	准教授	鈴　木　　卓
	副　査	教　授	近　藤　則　夫
	副　査	教　授	松　浦　英　幸
	副　査	講　師	実　山　　豊
	副　査	講　師	志　村　華　子

学 位 論 文 題 名

タマネギ鱗茎の品種間差に及ぼすフルクタン代謝メカニズムの研究

本論文は、図 30、表 13 を含む総ページ数 87 の和文論文であり、他に参考論文 3 編が添えられている。

本研究では、タマネギの鱗茎フルクタン含量における品種間差を生じる分子メカニズムを明らかすることを目的として、タマネギ栽培期間中のフルクタン代謝酵素の活性評価を行い、それらと品種間差との関わりについて調べた。また、タマネギで発見されていなかったフルクタン分解酵素 1-FEH を単離し、その機能解析を行った。

１．タマネギ生育期間におけるフルクタン蓄積およびフルクタン代謝酵素活性の動態

鱗茎収穫物のフルクタン含量が高い‘北もみじ 2000’および低い‘ポールスター’の 2 品種を用いて、定植から収穫までの鱗茎のフルクタン含量およびフルクタン代謝酵素の活性を測定した。その結果、‘ポールスター’も‘北もみじ 2000’と同程度にフルクタンを合成する能力はあることが分かり、実生時から鱗茎肥大前までは 2 品種におけるフルクタン含量や組成に違いはなく、フルクタン含量の違いは収穫 2 週間前の鱗茎肥大開始以降に現れることが分かった。鱗茎組織から粗酵素液を抽出し、フルクタン代謝酵素（合成酵素：1-SST、6G-FFT、1-FFT、分解酵素：1-FEH）およびスクロースの分解に関わるインベルターゼ（INV）の活性を 2 品種で比較した。フルクタン合成に関わる酵素活性は、両品種とも生育期間中に同様の時期で増減しており、特に、鱗茎肥大期間の合成酵素活性は北もみじ 2000’よりも‘ポールスター’において高かった。合成酵素活性が高いにも関わらず‘ポールスター’はこの時期の鱗茎に多くのフルクタンを蓄積できていないことから、鱗茎のフルクタン蓄積の品種間差は、合成酵素の活性量よりも反応基質の量などが律速となって影響しているのではないかと考えられた。地上部の葉身組織のフルクタン動態を解析したところ、鱗茎肥大が起こるまでは葉身にもフルクタンが蓄積しており、鱗茎肥大開始後は単糖およびスクロースのみが検出された。葉身フルクタンの量や組成にも 2 品種間で大きな違いはなかったが、鱗茎肥大期間の葉身スクロース量には違いがあり、‘北もみじ 2000’のスクロース量が‘ポールスター’よりも有意に高かった。スクロースはフルクタン合成の基質であることから、鱗茎肥大中、葉身から転流されるスクロース量の違いが鱗茎

のフルクタン量に影響する可能性が示唆された。また、‘ポールスター’は‘北もみじ 2000’よりも INV 活性が高かったことから、フルクタン合成に必要となる十分量のスクロースを蓄積できないことも考えられる。これらのことから、フルクタン蓄積の品種間差には、フルクタン合成酵素の活性量よりも基質となるスクロース量が大きな影響をもち、スクロースを供給するフルクタン分解酵素や INV の活性の違いが大きく関わるのではないかと考えられた。

２．フルクタン加水分解酵素の同定

フルクタン合成に関わる 1-SST や 6G-FFT については、遺伝子同定や精製酵素の解析例がわずかにあるが、タマネギのフルクタン加水分解酵素 1-FEH については全く報告例がなかった。本研究では、フルクタン代謝遺伝子の保存領域で作製したプライマーを作製し、タマネギ cDNA ライブラリから 1-FEH の同定を試みた。候補遺伝子として選抜した Onion9132 遺伝子はタバコプロトプラスト一過発現系を用いて発現させ、抽出した粗酵素液を用いて様々な糖を基質として加え、その反応生成物を調べた。その結果、Onion9132 は 1-ケストース、ネオケストース、1&6G-kestotetraose を分解してフルクトースを生じる活性を示した。分解様式をみると、フルクトース-フルクトース間のβ（2→1）結合だけでなく、フルクトース-グルコース間のβ（2→6）結合も分解していたことから、Onion9132 は唯一アスパラガスでのみ報告がある 6G&1-FEH の活性を持つことが示された。既知のフルクタン代謝酵素と Onion9132 の系統解析の結果、植物でみつかっているすべてのフルクタン加水分解酵素は細胞壁型 INV と同一クレードに分かれるのに対し、Onion9132 は液胞型 INV やフルクタン転移酵素と同じクレードに分かれた。これまで、植物の FEH は細胞壁型 INV から進化したとされてきたが、Onion9132 は液胞型 INV から進化したことが示唆される初めての FEH であると考えられた。

フルクタン代謝メカニズムの研究は、タマネギの様々な生理特性とフルクタンとの関連を明確にさせ、食味、貯蔵性や耐病性に優れた優良タマネギ品種を育成するための基礎知見を得ることにつなげられる。本研究で得られたフルクタンの代謝機構の端緒も今後のタマネギ育種に有用な知見を与えるものである。

これらのことから、審査員一同は、奥聡史氏が博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。