

氏名	刘 学軍
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	学 術
学位授与番号	博甲第2208号
学位授与の日付	平成13年 3月25日
学位授与の要件	自然科学研究科生産開発科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文の題目	Studies on the Internal Regulatory Mechanism of Genes Related to Ethylene Biosynthesis in Banana Fruit (バナナ果実のエチレン生合成関連遺伝子の内的調節機構に関する研究)
論文審査委員	教授 稲葉昭次 教授 白石友紀 教授 岡本五郎

学位論文内容の要旨

(1) バナナ果実から、エチレン生合成の2つの律速酵素である 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC)合成酵素 (ACS)と ACC 酸化酵素(ACO)の遺伝子をそれぞれ4種と2種クローニングした。バナナ果実の成熟開始直後の鋭いエチレン生成のピークには、*MA-ACS1* 遺伝子の急激な発現誘導とその後の補助因子の低下による ACO 活性の急減が関与していた。

(2) バナナ果実から高活性の ACS を抽出する方法を polyethyleneglycol-acetone 洗浄法を用いて確立した。

(3) バナナでは、果皮と果肉のエチレン生合成の feedback 制御が異なっていた。未熟果肉では、*MA-ACS1*, *MA-ACO1* 及び *MA-ACO2* 遺伝子は転写レベルの positive feedback 制御を受けていたが、成熟開始後は *MA-ACS1* が negative feedback 機構によって調節されていた。果皮では、これらの遺伝子はいずれも positive feedback 制御を受けていた。

(4) バナナ果実から3種のエチレン受容体 cDNA と4種の *EIN3-like* cDNA をクローニングした。果皮、果肉共に、*MA-ERS* 遺伝子はいずれも、一定の発現量を示し、またプロピレンや MCP 処理の影響を受けなかった。*MA-EIL2* と *MA-EIL4* 遺伝子は、果肉では成熟開始とともに発現量が急減したが、果皮では変化を示さなかった。この2つの遺伝子の果皮と果肉での異なる発現パターンが両組織での異なるエチレン生合成の feedback 調節機構と関連することが伺われた。

以上のことから、バナナ果実のエチレン生合成は、成熟の開始前後で feedback 制御の方向が転換し、しかも果皮と果肉間でも異なる調節機構が働いていることが明らかになった。

論文審査結果の要旨

本研究は、典型的なクライマクテリック型果実であるバナナについて、成熟開始時に見られる特徴的なエチレンの鋭いピークの生成機構を生化学面と分子生物学面から解析したものである。

まず最初に、果実からエチレン生合成の律速酵素であるACSとACO遺伝子を数種類クローニングするとともに、その発現解析を行い、成熟開始とともに急増するエチレン生成にはMA-ACS1遺伝子の急激な発現誘導とMA-ACO1mRNAの急激な蓄積が関与していることを明らかにした。一方、その後の急激なエチレン生成の減少は、両遺伝子の発現低下によるのではなく、ACOの活性補助因子であるアスコルビン酸と可溶性鉄の急減に起因することを示した。これらの知見は、補助因子の添加実験によるACO活性の回復と従来は不可能であった高活性のACS抽出方法の確立実験により認証している。

次に、feedback調節機構について調べ、成熟開始時のエチレンはACS1、ACO1 およびACO2遺伝子のpositive feedback調節により誘導されるが、成熟開始後はnegative制御に転換する可能性を見出し、このこともエチレン生成の鋭いピークの要因になっていることを示した。興味あることに、果肉ではACS1遺伝子は転写レベルでnegative調節を受けているが、果皮ではpositiveであり、成熟開始後は果皮と果肉ではfeedback制御の方向性が異なっていることを示した。

さらに、エチレンの受容体と信号伝達に関わる遺伝子のクローニングと発現解析から、EIL2とEIL4 遺伝子の発現量は、果肉では成熟の開始とともに急減するが、果皮では一定であることから、果皮と果肉のエチレン生合成のfeedback制御の方向性の違いには、これらの遺伝子の発現様相の差が関与していることを示した。

以上のように、本研究は果実の成熟生理に新たな知見を付け加えるものであり、博士（学術）の学位に値すると認定できる。