

報告番号	甲栄 第 207 号
論 文 内 容 要 旨	
氏 名	石川 寧子
題 目	<i>Phototropin 2 is involved in blue light-induced anthocyanin accumulation in Fragaria x ananassa fruits</i> (イチゴ果実において <i>phototropin2</i> は青色光にて誘導されるアントシアニン蓄積に関わる)
<p>アントシアニンフラボノイド系色素の一種で、花や果実などにおける赤、青、紫などの多様な色調を発現し、高等植物の成熟過程における必須二次代謝産物である。植物においてアントシアニンは、他の動物を引きつけることで種子の拡散や受粉を促したり、紫外線などの強い光から植物を守る役割を担っている。イチゴにおいて、アントシアニンは主要なフラボノイド化合物であり、抗酸化作用や栄養価に重要な役割を果たしている。しかしながら、イチゴ花托のアントシアニン蓄積における可視光中の様々な光質の影響はまだ明らかになっていない。本研究では、イチゴ (<i>Fragaria x ananassa</i>, cv. Sachinoka) の赤く色づく前の白い花托に青色 (405、465 nm)、緑色 (535 nm)、赤色 (660 nm) の LED を照射し、イチゴ花托への着色効果 (アントシアニン含量) を解析した。その結果、青色 (465 nm) の照射を行うことによりアントシアニン含量が最も増加することを示した。</p> <p>光感受機構を分子レベルで解析するため、青色や紫外線 UVA を感受する青色光受容体、フォトトロピン (<i>FaPHOT1</i>、<i>FaPHOT2</i>) およびクリプトクロム (<i>FaCRY1</i>、<i>FaCRY2</i>)、主に赤色や遠赤色光を感受する赤色光受容体であるフィトクロム (<i>FaPHYA</i>、<i>FaPHYB</i>) のそれぞれのホモログを単離した。アミノ酸配列レベルで相同性を解析した結果、単離したイチゴ各光受容体は、他植物の各光受容体ホモログと比較して 68% 以上、同じ属であるエゾヘビイチゴ (<i>Fragaria vesca</i>) の各ホモログとは 89% 以上の高い相同性を示し、各光受容体で保存されているドメインを有していた。他植物ホモログとの系統解析を行った結果、イチゴ各光受容体は他植物カウンターパートの各クラスターに位置し、エゾヘビイチゴと最も近くに位置していた。これらの結果から、イチゴ各光受容体は他植物の各光受容体のカウンターパートであると示唆された。</p> <p>イチゴ花托成熟は small green (SG)、medium green (MG)、big green (BG)、white (Wh)、turning (Tu)、red (Re) の 6 ステージに分類できる。これら各成熟ステージにおけるイチゴ光受容体遺伝子の発現解析をリアルタイム PCR 法により行った結果、<i>FaPHOT1</i>、<i>FaCRY1</i>、<i>FaCRY2</i>、<i>FaPHYA</i>、<i>FaPHYB</i> は SG ステージの発現量が最も高く、成熟に従って減少していたのと対照的に、<i>FaPHOT2</i> は成熟に伴って発現量が顕著に増加していた。また、アントシアニン含量も花托成熟とともに増加していたことから、花托成熟に <i>FaPHOT2</i> が関与しているのではないかと示唆された。</p> <p>イチゴ花托でのアントシアニン蓄積における <i>FaPHOT2</i> の効果を解析するため、アグロバクテリウムを介したインフィルトレーション法により、<i>FaPHOT2</i> の抑制または過剰発現をし、青色長 465 nm の照射下における花托着色の変化を解析した。RNAi 法により <i>FaPHOT2</i> 発現を抑制した結果、アントシアニン含量は有意に減少した。逆に、過剰発現するとアントシアニン含量は有意に増加した。これらの結果から、イチゴ花托において青色光はアントシアニン蓄積を誘導し、この過程において <i>FaPHOT2</i> は青色光感受の役割を担い、アントシアニン合成を調節しているのではないかと示唆された。これらは、イチゴ花托における可視光と色素 (アントシアニン) 蓄積との関連を示した最初の報告である。</p>	

論文審査の結果の要旨	
報告番号	甲栄第 207 号  氏名 石川 寧子
審査委員	主査 寺尾 純二  副査 中屋 豊  副査 栗田 信浩
<p>題目</p> <p><i>Phototropin 2 is involved in blue light-induced anthocyanin accumulation in Fragaria x ananassa fruits</i>                      (イチゴ果実において phototropin2 は青色光にて誘導されるアントシアニン蓄積に関わる)</p> <p>著者</p> <p>Yasuko Kadomura-Ishikawa, Katsuyuki Miyawaki, Sumihare Noji, Akira Takahashi</p> <p>2013年5月21日 Journal of Plant Research に受理済</p> <p>要旨</p> <p>アントシアニンは、ポリフェノールに分類され、花や果実などの高等植物の成熟過程における必須二次代謝産物である。イチゴにおいて、アントシアニンは主要なポリフェノールであり抗酸化作用を持つなど栄養学的に重要な役割を果たすと考えられている。しかし、イチゴ果実のアントシアニン蓄積に対する光照射時の光質の影響は明らかではない。本研究では、イチゴ果実において青色光照射によりアントシアニン含量が最も増加することを明らかにした。さらに、光感受性を分子レベルで解析するため、光受容体遺伝子であるフォトトロピン (<i>FaPHOT1</i>、<i>FaPHOT2</i>)、クリプトクロム (<i>FaCRY1</i>、<i>FaCRY2</i>)、およびフィトクロム (<i>FaPHYA</i>、<i>FaPHYB</i>) のそれぞれのホモログを単離した。これら光受容体遺伝子の果実成熟過程における発現解析を行った結果、<i>FaPHOT2</i> のみが成熟に伴って発現量が有意に増加した。また、アントシアニン含量も果実成熟とともに増加していた。イチゴ果実でのアントシアニン蓄積における <i>FaPHOT2</i> の効果を解析するため、<i>FaPHOT2</i> の発現を RNAi 法により抑制すると、アントシアニン含量は有意に減少し、<i>FaPHOT2</i> を過剰発現するとアントシアニン含量は有意に増加した。これらの結果から、イチゴ果実において可視光の中でも青色光がアントシアニン蓄積を顕著に誘導し、この過程において <i>FaPHOT2</i> は青色光を感受し、アントシアニン合成を調節することが示唆された。これは、イチゴ果実において、可視光とアントシアニン蓄積との関連を示した最初の報告である。</p> <p>アントシアニンの栄養学的価値はブルーベリーを始め多くの報告があり、その合成系の解析も進んでいるが、合成・蓄積そのものを制御する仕組みは不明な点が多い。本研究は、アントシアニン合成・蓄積の制御に光が関わっていることを見出し、青色光が重要であることを生理学的・分子生物学的に示し、高等植物果実のアントシアニン合成・蓄積機構の一端を明らかにしたもので、博士(栄養学)の学位授与に値するものと判定した。</p>	