

令和 3 年 3 月 19 日

埼玉工業大学大学院工学研究科長殿

学位論文審査委員会

主査 秦田 勇二



副査 熊澤 隆



副査 石川 正英



副査 巨 東英



副査 秋田 祐介



学位（博士）論文及び最終試験の審査結果について（報告）

専攻名：博士後期課程 生命環境化学 専攻

学籍番号：1823001

院生氏名：康 暁飛

論文題目：シクラメンの花色素生合成に関する分子生物学的解析

上記の学位（博士）論文について、令和 3 年 3 月 19 日に審査および最終試験を行い、その結果を下記のとおり報告します。

記

1 学位論文の内容の要旨：

冬の代表的な鉢植え花きであるシクラメンについて、本研究室では埼玉県が世界で初めて開発した芳香シクラメンを用いて、「香りを変えずに花色バリエーションを増やす」という研究を進めている。そのためには、花色生合成に「真」に関与する因子の同定が必要である。そこで本研究では、シクラメンの花色素（フラボノイド）生合成に関わる遺伝子群を単離し、機能解析を進めた。

シクラメン野生種の花色素は malvidin 3,5-diglucoside (Mv3,5dG) というアントシアニンが主であることがわかっている。一方で、園芸品種 'Strauss' は peonidin 系アントシアニンを主色素としている品種である。これは、マルビジン系とシアニジン系のアントシアニン生合成に必要な因子のはたらきが、野生種と 'Strauss' において異なっていることを示している。そこで peonidin 系アントシアニンの生合成に重要な *flavonoid 3'-hydroxylase* (*F3'H*) を 'Strauss' より単離し解析を行った。'Strauss' より 3 種類の *F3'H* 様遺伝子 (*F3'H1*、

F3'H2a, *F3'H2b*) を単離し、その構造及び発現解析を行なった。その結果、特に *F3'H2a* と *F3'H2b* が花色生合成に重要である可能性を示した。

次に、芳香性野生種 (*C. purpurascens*) のアントシアニンの配糖化に必要な酵素である 5-*O*-glucosyltransferase (5GT) の機能解析を行った。*5GT* はシクラメンで 8 種類ほどのホモログが単離されているが、どれが「真」に花色に関わっているか不明である。そこで、これまでの発現解析の結果より、最も花色に関わっている可能性が高い遺伝子 (*Cpur5GT2*) について、大腸菌内でタンパク質発現を行い、精製後、その基質特異性を *in vitro* で解析した。その結果、*Cpur5GT2* が *C. purpurascens* の花色生合成に関与している可能性が非常に高いことを示した。

以上より、本研究では *F3'H* および *5GT* というアントシアニンの生合成に重要な酵素遺伝子群の同定に成功した。この成果はシクラメン花色生合成経路の分子基盤を形成するものでもあり、新たな花色品種作出のための重要なゲノム情報を提供することになる。

2 審査意見：

シクラメン (*Cyclamen species*) は冬の代表的な鉢植え花きであり、その市場は世界的にも大きい。一方で、花色生合成に関わるゲノム情報が非常に少ないため、花色生合成に「真」に関与する因子を同定することが求められている。そこで申請者では、シクラメンにおける花色 (フラボノイド) 生合成に関わる遺伝子群を単離し、機能解析を進めることでシクラメンのゲノム情報を充実させる研究を行った。

シクラメン野生種の花色素は malvidin 3,5-diglucoside (Mv3,5dG) というアントシアニンが主であることがわかっている。一方で、園芸品種 'Strauss' は peonidin 系アントシアニンを主色素としている品種である。これは、malvidin 系と peonidin 系のアントシアニン生合成に必要な因子のはたらきが、野生種と 'Strauss' において異なっていることを示している。そこでシアニン系アントシアニンの生合成に重要な flavonoid 3'-hydroxylase (*F3'H*) を 'Strauss' より単離し解析を行った。その結果、単離した遺伝子が機能分化している可能性を示した。これは、アントシアニン生合成に関与する遺伝子が別の形質にも関与していることを示しており、今後のフラボノイド生合成研究に新しい知見を提供することとなった。

次に、アントシアニンの配糖化に必要な酵素である 5-*O*-glucosyltransferase (5GT) の機能解析を、別のシクラメン野生種である *C. purpurascens* より単離して行った。*GT* 様遺伝子はシクラメンで 8 種類ほどのホモログが単離されているが、どれが「真」に花色に関わっているか不明である。そこで、これまでの発現解析の結果より、最も花色に関わっている可能性が高い遺伝子 (*Cpur5GT2*) について、器官ごとの発現解析を行い、大腸菌内でタンパク質を発現させその基質特異性を *in vitro* で解析した。その結果、*Cpur5GT* がシクラメンの花色素生合成に非常に重要であることを証明した。

本研究の成果はシクラメン花色生合成経路の分子基盤を形成するものであり、新たな花色をもつ品種作出のために重要なゲノム情報を提供することになる。最終審査における発表や質疑応答でも本質を捉えた発表や対応をしており、研究に対する学識も十分に有していると判断できた。以上のことより、本研究を遂行した康 暁飛は自立して研究活動を行うに必要な研究能力と学識を有し、康の提出した論文は博士 (工学) の博士論文として合格と認める。

3 学位に付記する専攻分野の名称 (いずれかを○で囲む)

工学

学術

4 学位を授与できるか否かの意見

1) 審査結果 (いずれかを○で囲む)

① 学位論文及び最終試験の判定

合格

不合格

2) 意見