

審査の結果の要旨

氏名 藤内 直道

本論文は、遺伝子組換えアグロバクテリウムを植物に後天的に感染させて遺伝子導入を行うことで有用タンパク質を生産させる一過性遺伝子発現法の一つである *magniflection* 法による有用タンパク質生産において、植物環境要素がその植物内含量および生産量に及ぼす影響を調べ、大きな有用タンパク質含量・生産量を安定的に得るための環境調節法策定に資する新たな知見を得るとともに、その影響の機構の大筋を明らかにしようとしたものである。

第 1 章の緒言では、一過性遺伝子発現法を用いた有用タンパク質生産に関する既往の研究とその動向について調査・検討し、既往の研究では環境調節の観点が欠落していること、および環境調節が有用タンパク質生産に重要な役割を果たしうることを指摘した。併せて、本論文の中心となる 4 つの研究、すなわちベンサミアタバコ「植物体地上部」または「切離葉」に遺伝子導入を行うそれぞれの方法において、環境要素がインフルエンザワクチンタンパク質（ヘマグルチニン, HA）生産量に及ぼす影響を調べた研究について、その背景および目的を詳述している。

第 2 章では、遺伝子導入前のベンサミアタバコ栽培に用いる液肥の硝酸濃度が HA 含量に及ぼす影響を調べている。硝酸濃度を 12 (N12)、36 (N36)、または 60 (N60) mmol L⁻¹ とした液肥を施用して栽培したベンサミアタバコに遺伝子導入を行った。N60 では、植物体あたりの HA 含量の点では N12 および N36 と同程度であるが、葉生体重あたりの HA 含量の点では大きくなることを明らかにした。さらにこのことから、N60 液肥施用により葉収穫物からの HA の抽出・精製工程に要するコストを低減しうることを指摘した。

第 3 章では、栽培面積あたりの HA 生産量および植物体から刈り取った葉収穫物の生体重あたりの HA 含量に栽植密度が及ぼす影響を調べている。栽培面積あたりの収穫物生体重が大きくなるような高栽植密度であっても、栽培面積あたりの HA 生産量が低栽植密度と比較して大きくなるとは限らないことを示した。さらに、高栽植密度では、収穫物生体重あたりの HA 含量が小さかったことから、収穫物からの HA の抽出・精製に要するコストの点で不利となる可能性があることを指摘した。

第 4 章では、切離葉法を用いた場合に、遺伝子導入後に切離葉内に残存するアグロバクテリウム懸濁液の水量が HA 含量に及ぼす影響を調べている。切離葉法では、遺伝子導入を行うために葉内にアグロバクテリウム懸濁液を浸潤させた直後に懸濁液の水を蒸散させる処理が必要であるとされているが、その蒸散処理後に葉内に残存する水量が HA 含量に

及ぼす影響はこれまで不明であった。切離葉あたりおよび生体重あたりの HA 含量はともに、アグロバクテリウム導入前の切離葉生体重に対する蒸散処理終了時の切離葉生体重の比（処理後相対生体重）が大きいほど小さかったことから、蒸散処理後に切離葉内に残存する懸濁液の水が切離葉での HA 蓄積を抑制していたこと、およびその抑制の程度は処理後相対生体重が大きいほど大きいことを明らかにした。また、蒸散処理においては、処理後相対生体重が有用な指標となることを示した。

第 5 章では、切離葉法を用いた場合の遺伝子導入・蒸散処理後の培養中における光合成有効光量子束密度 (PPFD) が、切離葉の生体重あたりおよび葉あたりの HA 含量に及ぼす影響を調べている。培養中の切離葉面における PPFD は、0 (P0)、50 (P50)、100 (P100)、または 500 (P500) $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の 4 試験区とした。HA 含量、積算 CO_2 同化量、乾物重増大量および乾物率の測定結果から、切離葉法において生体重あたりおよび葉あたりで大きな HA 含量を得るには、培養中の切離葉表面における PPFD を 50 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 以上とするように切離葉に光照射を行う必要があることを明らかにした。

最後の第 6 章では、結語として、本研究の結果を総括するとともに、今後の研究課題に言及している。

以上、本論文は、一過性遺伝子発現法による有用タンパク質生産において、複数の植物環境要素が有用タンパク質の植物内含量および生産量に及ぼす影響を調べ、それらの影響の機構の大筋を明らかにするとともに、一過性遺伝子発現法による有用タンパク質生産における環境調節の重要性を実証したものである。これらの研究成果は、学術上、応用上寄与するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。