

氏名	VU TUAN NAM
学位の種類	博 士 (農 学)
学位記番号	博 甲 第 9 2 8 1 号
学位授与年月日	平成元年 9 月 2 5 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
審査研究科	生命環境科学研究科

学位論文題目

Characterization of the *SlHSP70-1* Functions by Gene-to-gene Co-expression Analysis to Uncover Relationships of *SlHSP70-1*, *SlIAA9* and *SlDELLA* in the Tomato Correlation Networks (トマト相関ネットワーク内の *SlHSP70-1*、*SlIAA9* および *SlDELLA* における相関関係に着目した遺伝子間共発現解析による *SlHSP70-1* の機能解析)

主査	筑波大学教授	博士 (農学)	草野 都
副査	筑波大学教授	博士 (農学)	柴 博史
副査	筑波大学教授	博士 (農学)	三浦 謙治
副査	筑波大学助教	博士 (生物資源工学)	王 寧

論 文 の 要 旨

トマトは世界中で栽培されている付加価値の高い野菜類の一つである。肥料投与量や栽培環境の最適化を行っても、生育促進や果実収量増加の向上には限界があるため、植物ホルモンの投与が併用されることが多い。数ある植物ホルモンの中で、オーキシンおよびジベレリンがトマト栽培の現場において主に利用されており、オーキシンおよびジベレリンを介した応答性遺伝子の制御には *SlIAA9* および *SlDELLA* が大きく関わることが知られている。本論文において著者は、これらの制御因子をコードする遺伝子が他の遺伝子とどのような相関関係を示すのかを、遺伝子共発現ネットワーク解析により明らかにすること、その中から代表的な遺伝子を選抜し、その機能解明を行うことを目的としている。

第 1 章で著者は、野菜としてかつモデル植物としてのトマトの位置づけについて触れ、トマト生長や発達の促進および果実収量増加のためのこれまでの取り組みについて紹介している。その中で、遺伝子改変による農業的有用形質改善の可能性に着目し、*SlIAA9* および *SlDELLA* がトマトの生長および果実に与えるインパクトについて議論している。一方で、遺伝子間の相関解析法の一つである遺伝子共発現ネットワーク解析について紹介後、先行研究における本解析の利用例を挙げ、トマトの生長発達制御機構の理解についての可能性について言及している。

第 2 章で著者は、*SlIAA9* および *SlDELLA* それぞれの遺伝子の近傍に位置する遺伝子を抽出するため、トマトの公共マイクロアレイデータを用いた遺伝子共発現ネットワーク解析を行った。次に、各ネットワーク内の近傍遺伝子に対し、遺伝子オントロジー (GO) 解析を行った。*SlIAA9* ネットワークでは、GO で定義された用語である GO term が 18 個ハイライトされ、その term は多岐にわたっていた。その一方で、*SlDELLA* ネットワーク内での GO term はすべてタンパク質に由来するものであった。*SlDELLA* ネットワーク内で *SlDELLA* と直接つながっている 7 個の遺伝子のうち、Solyc06g076020 が熱ショックタンパク質 70 (HSP70) をコードしていることが判明した。公共マイクロアレイデータ内に存在する 9 つの *SlHSP70* のうち、*SlDELLA* と直接つながった遺伝子が Solyc06g076020 (以下、*SlHSP70-1* とする) のみであったこと、*SlIAA9* ネットワーク内における本遺伝子は最短距離で 3 つ目に位置していたことを踏まえ、なぜ著者が *SlHSP70-1* を機能解析のための標的遺伝子として選抜したか、その理由について議論している。

第 3 章で著者は、トマトに存在する *SlHSP70* をコードする遺伝子ファミリーについて、ゲノムおよびアミノ酸配列の公共データに基づいた特徴づけを行った。トマトには、*SlHSP70* をコードする遺伝子が 25 個存在

する。標的遺伝子である *SIHSP70-1* と他の *SIHSP70* の関係性を理解するため、系統樹解析および遺伝子重複解析を行った結果、*SIHSP70-1* と同一のクラスターに存在する *SIHSP70* が 4 個存在すること、*SIHSP70-1* が最も高い遺伝子重複率を示すことを明らかにした。さらに、*SIHSP70-1* の部位別発現パターンについて知見を得るために、公共ツールを用いて解析した。これらの結果を踏まえ、*SIHSP70-1* が他の *SIHSP70* と機能重複する可能性について述べている。

第 4 章で著者は、*SIHSP70-1* の過剰発現体の作出および機能解析を行った。過剰発現体 2 系統の形態的表現型を観察した結果、過剰発現体は節間および草丈の伸長が認められた。一方、本遺伝子の過剰発現は葉の形態形成や結実および果実の大きさに影響を及ぼさなかった。既知の情報として、*SI1AA9* および *SIDELLA* の機能欠損株では、節間および草丈の伸長の他、異常な葉の形態形成や単為結果性の獲得といった表現型を示すことが知られている。本研究により筆者は、*SIHSP70-1* が高発現した条件下では、節間および草丈の伸長に対して *SI1AA9* および *SIDELLA* の上流もしくは同等の機能を持つと推測している。

第 5 章で著者は、TILLING 法による *SIHSP70-1* の機能欠損もしくは低下株の作出を行った。作出した変異体の形態的表現型を観察を行った結果、野生株と比較し生長、発達、結実および果実形態について差異は認められなかった。本結果について著者は、用いた変異体がミスセンス変異であったことから、*SIHSP70-1* の機能が完全に抑制できなかったと推察している。また、*SIHSP70-1* と機能重複する *SIHSP70* が *SIHSP70-1* 変異体において機能を有すると考えられるため、*SIHSP70-1* の機能が相補された可能性を指摘している。

第 6 章で著者は、本論文の総合考察を行っている。*SIHSP70* は、細胞が熱等のストレス条件下にさらされた際に発現が上昇して細胞を保護するタンパク質群の 1 種であることから、*SIHSP70-1* も高温条件下で機能を有する可能性がある。著者はトマトにおける *SIHSP70-1* も高温ストレス条件下で生育させた場合、ストレス耐性を示す可能性について論じている。第 3 章および第 5 章で著者が考察したように、*SIHSP70-1* は *SIHSP70* と機能重複する可能性が高いことが指摘されている。一方、節間および草丈の伸長制御については、*SI1AA9* および *SIDELLA* のみならず *SIHSP70-1* および本遺伝子と機能重複する *SIHSP70* が関わることを論じている。このことから、*SIHSP70-1* のみを過剰発現させた場合に観察された節間および草丈の伸長は、*SIHSP70-1* の機能冗長性が要因のひとつと考えられると結論付けている。

審 査 の 要 旨

本審査対象論文では、オーキシンおよびジベレリンを介した応答性遺伝子の制御に関わる *SI1AA9* および *SIDELLA* に着目し、トマトの公共マイクロアレイデータを用いた遺伝子共発現ネットワーク解析を行った。共発現ネットワーク解析は、着目した遺伝子と高い相関性を持つ遺伝子群に対しグラフ理論を用いて視覚化することで、ネットワーク構造に関する情報を得るものである。本研究では、*SI1AA9* および *SIDELLA* の近傍に位置する機能未知の *SIHSP70-1* を研究対象として選抜し、逆遺伝学による機能解析を行った。このような研究スタイルは、数万個存在する遺伝子群が様々な条件で発現するパターン情報をもとに行われることから、逆遺伝学的アプローチと相関が高い。この点を活用し、*SIHSP70* ファミリーに属するがその機能は未知である *SIHSP70-1* の過剰発現体が節間および草丈伸長に与える影響を明らかにした点は、ホモログが多く存在する遺伝子群の機能解析法の有効性を示したものであり、学術的に高く評価できる。*SI1AA9* および *SIDELLA* の機能欠損は、トマトの有用形質の一つである単為結果性を向上させる機能を有する。しかし、草丈の徒長や葉の形態形成異常といった負の形質も示すことが知られている。*SIHSP70-1* 過剰発現体の形態的表現型観察の結果、*SIHSP70-1* 過剰発現は節間および草丈伸長のみに影響を与える一方、葉の形態形成および単為結果性には関連性がないことを見出した。これは、*SIHSP70-1* およびそのホモログが関わる遺伝子が *SI1AA9* および *SIDELLA* の制御構造の一端を担うことを明らかにしたものであり、遺伝子共発現解析の新たな可能性を拓くものとして高く評価できる。

令和元年 7 月 25 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと、論文の審査および最終試験を行った。本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有する者として認める。