

氏名（本籍）	杉 直也		
学位の種類	博 士（ 農学 ）		
学位記番号	博 甲 第 9849 号		
学位授与年月日	令和 3 年 3 月 25 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	マルチオミクス統合解析によるシロイヌナズナ種内雑種における 雑種強勢メカニズムの解明		
主査	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）	草野 都
副査	筑波大学教授	理学博士	佐藤 忍
副査	筑波大学助教	博士（生物資源工学）	王 寧

論 文 の 要 旨

審査対象論文は、アブラナ科植物シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) 種内系統およびそのF1雑種を対象として、雑種強勢時における一次代謝物の変化を調べ、雑種強勢機構の分子生理機構について解析を行った研究である。また維持型DNAメチル化酵素欠損株で見られる生育遅延と一次代謝物との関係を明らかにし、雑種強勢へのエピジェネティック制御の可能性も検討している。

著者は、雑種強勢が観察される組み合わせであるシロイヌナズナ種内系統 (Co1とC24) とそれらを相互交配させて得たF1雑種について、著者が確立した外的環境ストレスや個体差を極力排除した植物栽培条件[1/2MS塩濃度 (pH5.7、Sucrose無し)、1% Agar、22°C、12hour light/12hour dark ($120 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)]で栽培し、播種後13、15、17日目のF1雑種およびその両親系統実生から代謝物を抽出、メタボローム比較解析を行っている。その結果、F1雑種特異的に減少する2つの代謝物[2-オキシグルタル酸 (2-OG)とリンゴ酸]と1つの増加する代謝物(アスパラギン酸)を明らかにした。次に上記栽培条件で栽培したF1雑種とその両親系統における転写産物をマイクロアレイ解析に供し、F1雑種において1.5倍以上かつ有意な (FDR < 0.05) 発現変化を示した56遺伝子を明らかにした。この56遺伝子をSingular Enrichment Analysis (SEA)に供し発現変動遺伝子群の機能を推定したところ、“nitrogen”を含むGOタームを抽出した。メタボローム解析で見られたF1雑種特異的な2-OGの減少およびマイクロアレイ解析結果は、F1雑種において窒素代謝に何らかの変化が生じた可能性を示唆している。この結果を受け著者は、窒素代謝関連遺伝子について定量PCRを行い、葉緑体型グルタミン合成酵素 (GLN2) の有意な発現上昇を検出した。GLN2は光呼吸によって生じる NH_4^+ の葉緑体内における再同化に重要であることが知られている。そこで著者は、F1雑種におけるGLN2の発現上昇は、光呼吸によって生じる NH_4^+ を無毒化する代謝反応が活性化している可能性を考え、光呼吸による NH_4^+ をほとんど生じない条件である約0.2%の CO_2 濃度で植物体を栽培したところ、両親系統では著しい成長促進が見られたのに対して、F1雑種では生長の増加は限定的であった。以上の研究結果から著者は、F1雑種で見

られるバイオマス増加は、光呼吸や窒素代謝が関連すると結論づけた。

続いて著者は、近年、雑種強勢への関与が指摘されているエピジェネティックな発現制御機構について知見を得るため、維持型DNAメチル化酵素MET1をコードする遺伝子の欠損株 (*met1*変異株) を用いた表現型解析、トランスクリプトーム解析、プロテオーム解析、メタボローム解析を行った。上記F1雑種の栽培に用いた栽培系を用いて*met1*変異株と野生型を栽培したところ、*met1*変異株は野生型と比較して有意な生長遅延とバイオマス減少を示した。メタボローム解析の結果、*met1*変異株においては糖代謝、TCA回路、アミノ酸代謝などが変動していたが、2-OGの有意な変動は見られなかった。また*met1*変異株と野生株を用いたプロテオーム解析結果を見ると、メタボローム解析の結果と関連した変動が観察された。一方、トランスクリプトーム解析では代謝への明確な関与を示す遺伝子の変動は見られず、*GLN2*の発現にも変化が無かった。

以上の研究結果から著者は、DNAメチル化はバイオマス制御及び糖やアミノ酸代謝を維持する働きがある一方で、F1雑種で見られた光呼吸や窒素代謝の制御には関与しない可能性を示唆した。最後に著者は、本研究で提唱した*GLN2*を介したバイオマス制御メカニズムは広く作物に共通のものであり、育種への応用が大いに期待されると結論づけた。

審 査 の 要 旨

雑種強勢は遺伝学による研究知見を農業生産の現場に効果的に応用された例の一つであり、穀物や野菜の生産性向上に広く利用されている。しかし雑種強勢のメカニズムについては、不明な点が多く雑種強勢の制御には未だ至っていない。本審査対象論文において著者は、生長に直結する一次代謝物をメタボローム解析することで雑種強勢のメカニズム解明を目指しており、種内系統およびそのF1雑種を対象として、バイオマス生産と一次代謝物との関係を調べた。その結果、F1雑種で見られるバイオマス増加は光呼吸によって生じた NH_4^+ を無毒化する代謝反応が活性化されたためとする新規雑種強勢モデルを構築した。これらの成果は、雑種強勢研究および植物メタボローム研究に新たな知見をもたらすものとして、学術的に高く評価できる。

令和3年1月22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に論文の審査及び最終試験を行い、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ものとして認める。