

氏名（本籍）	吳 明元 (MyeongWon OH)		
学位の種類	博 士 (生物工学)		
学位記番号	博 甲 第	7362	号
学位授与年月日	平成 27 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	Functional Analysis of Flooding and Drought Responsive Mechanism in Soybean using Gel-Free Proteomic Technique (ゲルフリープロテオミクス解析技術によるダイズの冠水および乾燥に対する応答機構の解明)		
主査	筑波大学教授（連携大学院）	薬学博士	小松 節子
副査	筑波大学教授	農学博士	松本 宏
副査	筑波大学准教授	博士（農学）	臼井 健郎
副査	筑波大学講師	博士（農学）	春原 由香里

論 文 の 要 旨

地球温暖化等の影響で、洪水や干ばつ等の異常気象が世界的に問題となっている。こうした自然環境の変化は、農業などへも影響を与え、食糧問題の深刻化や生物相の変化などが懸念されている。作物に対する洪水や干ばつによる湿害や乾燥等の非生物学的環境ストレスは、生長抑制や収量低下を及ぼす深刻な問題である。ダイズは、三大穀物であるイネ、ムギ、トウモロコシに続き消費量の多い作物であるが、非生物学的環境ストレスに弱い作物である。特にアジア地域では、ダイズの播種期が梅雨の時期に重なり、さらに成長期に乾燥ストレスに晒されるので、栽培に困難を生じる。この時期のストレス応答機構を解析することは、ストレス耐性作物の選抜に寄与するので、重要な課題である。従来、ダイズのストレス応答機構は、ゲノム情報が乏しかったために、個々の遺伝子に対して解析されてきた。本研究は、ストレス耐性ダイズ品種系統の選抜技術構築に貢献するために、ダイズの湿害および乾燥害に対する応答機構を、植物生理学的、タンパク質科学的、さらに分子生物学的に解析したものである。

本研究では、湿害や乾燥害のような非生物学的ストレスが、根の伸長や重量に及ぼす影響が顕著であることに着目した。まずダイズの根の伸長と重量に影響を及ぼすことが示唆される植物ホルモンやカルシウムを用いて、その影響を形態学およびタンパク質科学的に解析した。ストレス応答機構の解析研究があまり進んでいない播種後2日目の出芽期のダイズを研究材料にした。ジベレリンあるいは塩化カルシウム処理し、成長に及ぼす影響を解析した結果、ともに根の伸長を促すことを明らかにした。さらに根からタンパク質を抽出し、ゲルフリープロテオミクス技術で、変動するタンパク質群を解析した。その結果、冠水ストレス下の根において、二次代謝、細胞構築、生長、情報伝達に關与するタンパク質群は減少するが、ジベレリンやカルシウムの添加によりその蓄積量が改善されることを明らかにした。

次に、冠水あるいは乾燥ストレス時の応答機構を、形態学およびタンパク質科学的に解析した。冠水ストレスおよび乾燥ストレスにより、共に根の湿重量は減少するが、冠水ストレスでは根の伸長が抑制されるのに対し、乾燥ストレスでは根が細くなる。この変化の起こる時期において、ストレス添加時のダイズ根からタンパク質を抽出し、ゲルフリープロテオミクス技術により解析した。その結果、解糖系に関与するタンパク質群は、冠水ストレスおよび乾燥ストレスともに蓄積していた。冠水ストレスにより、タンパク質合成は抑制されるが嫌気代謝系に関しては促進し、乾燥ストレスでは逆の結果となった。一方で、酸化還元ストレスに関与するタンパク質は、乾燥ストレスにより蓄積するが、冠水ストレス下では変動しなかった。

さらに、冠水ストレスと乾燥ストレスにより共通に変動するタンパク質として3個のタンパク質を検出した。これらは、冠水ストレスにより減少し、乾燥ストレスにより増加する3種類のS-アデノシルメチオニン合成酵素であった。そこで、出芽期のダイズにおけるS-アデノシルメチオニン合成酵素の器官特異性とストレス特異性について、経時的に酵素活性、タンパク質蓄積量、RNA発現量の相違を解析した。それぞれ酵素活性測定、ウエスタンブロット、定量リアルタイムPCR法により詳細に解析した結果、3種類の内、一つのS-アデノシルメチオニン合成酵素(Glyma15g21890.1)は、RNA発現レベルおよび酵素活性レベルにおいても、タンパク質の蓄積量と同様の傾向を示した。一方でジベレリンやカルシウムの添加は、S-アデノシルメチオニン合成酵素活性には顕著な影響を及ぼさなかった。

以上、非生物学的ストレスの内、冠水ストレスと乾燥ストレスに対する応答機構を解析し、従来報告されている嫌気代謝系や酸化還元ストレスに関与するタンパク質群の挙動を明らかにすると同時に、S-アデノシルメチオニン合成酵素が両ストレスに対して相反する挙動を示すことを明らかにした。

審 査 の 要 旨

本研究は、植物に及ぼす影響が異なる乾燥害と湿害について、出芽期のダイズが示す応答機構の相違を詳細に解析したものである。形態学的、植物生理学的、タンパク質科学的、分子生物学的手法を駆使して、包括的にかつ綿密に解析を行っている。特に、従来個々のタンパク質に対して解析されていた研究分野に、ゲルフリープロテオミクス技術を導入し包括的に解析しようとした点が画期的であるとともに、S-アデノシルメチオニン合成酵素が両ストレスに対して相反する挙動を示すことを明確にした点で新規性が認められる。本研究において得られた成果は、ストレス耐性作物の選抜に向けた生物マーカーの作成に寄与する可能性もあり、高く評価される。

平成27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（生物工学）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。