

氏名	Mudassar Nawaz KHAN		
学位の種類	博 士 (生物工学)		
学位記番号	博 甲 第 7771 号		
学位授与年月日	平成 28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 Post-Flooding Recovery 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後回復機構の解明)		
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	筑波大学教授 (連携大学院)	理学博士	高辻博志
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。消費量の多い作物であるイネに次ぐムギ、トウモロコシ、ダイズ等は湿害に弱く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および回避に寄与する技術に寄与するので、重要な課題である。本研究は、ストレスからダイズを回避させる技術を構築するために、ダイズの湿害に対する応答および回復過程の機構を、植物生理学的、タンパク質科学的、さらに情報科学的に解析したものである。

本研究では、湿害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、湿害から回復する過程の変化を明らかにすることを目的とした。まず、ダイズ出芽期の冠水ストレスの強さに応じて、その後の回復に及ぼす影響を観察した。播種後2日目の出芽期のダイズ (品種エンレイ) に経時的な冠水ストレスを与え、水除去による回復過程において根や胚軸の重量および伸長の変動を測定した。根と胚軸ともに冠水時間に相関し重量と伸長が抑制され、その後の回復も抑制された。特に、6日間の冠水ストレスでは、その後、生存することは不可能であった。

次に、冠水後の回復過程の機構を解明する目的で、タンパク質科学的に解析した。2日間の冠水ストレスに対して、ストレス添加時および回復時のダイズ根および胚軸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。変動するタンパク質群の内、無処理と冠水ストレスにおいて、

共通に変動するタンパク質群に対して、情報科学的にクラスター解析およびタンパク質間相互作用解析により検討した。胚軸においてはPyruvate kinase、Nucleotide transferase、beta-Ketoacyl reductaseが冠水過程で蓄積量が減少あるいは増加し、水除去で素早く対照レベルまで回復することが明らかになった。根においては、PeroxidaseとLipoxygenaseが冠水過程で蓄積量が減少あるいは増加し、水除去で素早く対照レベルまで回復することが明らかになった。定量リアルタイムPCR法および酵素活性測定によりその変動を詳細に解析した結果、タンパク質の変動との間に相関性があることを明らかにした。

さらに、プロテオミクス解析で検出した冠水ストレスからの回復過程に関与しているPeroxidase、Phosphatase、beta-Ketoacyl reductase、Nucleotidyl transferaseについて、ストレス特異性、器官特異性、ホルモン特異性を経時的に解析した。酵素活性を指標として測定した結果、4種類とも根および胚軸において存在しており、顕著な器官特異性やストレス特異性はなかった。さらに、Peroxidaseとbeta-Ketoacyl reductaseは、冠水ストレス下で減少し、回復過程でも活性は回復しなかった。しかし、Nucleotidyl transferaseは、冠水ストレス下で増加し、回復過程で減少し、その効果はジャスモン酸の添加により影響を受けることを明らかにした。以上、出芽期のダイズの冠水ストレスからの回復にジャスモン酸が、Nucleotidyl transferaseを介して効果的に関与することを明らかにした。

審 査 の 要 旨

本研究は、ストレスからダイズを回避させる技術を構築するために、ダイズの湿害に対する応答および回復過程の機構を、植物生理学的、タンパク質科学的、さらに情報科学的に解析したものである。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。冠水ストレスを回避する一つ的手段として、冠水ストレスからの回復過程を促進させることに着目し、その機構を詳細に解析した点で新規性が認められる。特に、出芽期のダイズの冠水ストレスからの回復にジャスモン酸が、Nucleotidyl transferaseを介して効果的に関与することを明らかにしたことは、有効な手段となり得る。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28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。