

氏名	YIN Xiaojian		
学位の種類	博 士 (生物工学)		
学位記番号	博 甲 第 7 9 4 2 号		
学位授与年月日	平成 2 8 年 9 月 2 3 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	Comprehensive Analysis of Initial-Response Mechanism in Soybean under Flooding Stress (冠水ストレス下のダイズにおける初期応答機構の包括的解明)		
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 (連係大学院)	博士 (農学)	田中淳一
副査	筑波大学講師	博士 (農学)	春原由香里

## 論 文 の 要 旨

地球規模で顕在化している気候変動や人口増加などにより、世界の食料需給が逼迫することが予想される。中でもダイズは、消費量が穀類に次いで4番目であり油糧用やバイオ燃料用としても重要な作物であるが、世界的なバイオ燃料作物の増産による作付け競合等の影響を受け、需給は逼迫傾向にある。この問題を解決するためには、農業生物の潜在能力を最大限に引き出すとともに、飛躍的な機能向上を可能にする技術の開発が求められている。特に、温室効果ガスの排出は温暖化を招き降水量や降雨パターンを大きく変動させ、干ばつや洪水等の異常気象が世界各地で頻発している。異常気象のうち過湿害は、ダイズに出芽不良による欠株、雑草との競合、および土壌病原菌の感染を招き、最終的に収穫量の低下につながる複雑かつ深刻な問題である。つまり、ダイズの重要形質である耐湿性については、栽培環境の改良のみならず、ダイズに耐湿性を付与する技術の開発が不可欠である。この過湿害に関して、出芽期の後期については多くの知見が蓄積しているが、初期応答機構については不明な点が多い。そこで、著者は、ダイズの湿害に対する初期応答機構を解明し、湿害を早期に改善する手法を開発することを目指した。

審査対象論文は、第1章において、冠水ストレス下のダイズにおける早期の変動を形態学的・生化学的に解析している。ダイズ (品種エンレイ) を用いて、出芽期にあたる2日目で経時的に冠水処理を行い、根の重量や伸長の変化、ATP量等を測定した。処理後3時間で一時的に根の重量は増加するが、ATP量は顕著に低下した。このことより、冠水ストレス3時間のダイズ根で生じる機構を明らかにするためにリン酸化プロテオミクス解析技術を用いることとした。冠水ストレス3時間から24時間において

経時的にタンパク質を抽出し、質量分析計を基盤にしたプロテオミクス解析を行った結果、71個のタンパク質が変動していた。特に22個のタンパク質はリン酸化を介して変動しており、クラスター解析・インシリコタンパク質間相互作用解析の結果、エチレン応答に関与するEukaryotic translation initiation factor 4Gが冠水応答時の根の重量の変動に関与していることを明らかにした。

次に、冠水処理早期に非常に多くのタンパク質群が変動しており、鍵となるタンパク質を絞り込むことは困難であることより、第2章において、上流で変動する因子を同定する目的で、核タンパク質および核リン酸化タンパク質を解析している。冠水処理3時間の根から核タンパク質を精製しプロテオミクス解析を行った結果、mRNA成熟に関与するタンパク質およびリボソーム前駆体構築に関与するタンパク質が顕著に減少していた。無処理ではヒストン等のクロマチン構造に関与するタンパク質群が増加し相互作用しているが、冠水により減少しつつ相互作用は維持されていた。リボソーム構築系タンパク質群に着目すると、40Sおよび60Sリボソームのみならず、翻訳開始因子および伸長因子も出芽期の冠水ストレスにより抑制された。核のリン酸化タンパク質の解析により、アブシジン酸応答に関与するタンパク質群が冠水ストレス早期のATP量の変動に関与していることを明らかにした。

さらに、本論文は、冠水抵抗性機構を解明するために、冠水耐性突然変異ダイズや、アブシジン酸添加により冠水耐性を示す条件を利用して、プロテオミクス解析およびトランスクリプトミクス解析を行っている。結果として冠水抵抗性を示す時には、新規タンパク質群の合成抑制、抗酸化酵素の活性亢進、細胞壁弛緩の緩和に関する機構が作動していることを明らかにした。以上、出芽期のダイズの冠水初期応答において、リン酸化を介する植物ホルモン情報伝達系の関与を示し、その上流でmRNA成熟、リボソーム前駆体構築、クロマチン構造に関与するタンパク質群が変動していることを解明した。それら遺伝子群を利用することにより湿害を早期に改善する手法につながることを示唆している。

## 審 査 の 要 旨

著者は、ダイズにおける初期の冠水ストレスに着目して機能発現に至る機構を解明し、湿害を早期に改善する手法を開発することを目指した。形態学的、植物生理学的、タンパク質科学的、分子生物学的、情報科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、冠水ストレス初期に変動するタンパク質を解析する目的で、核タンパク質群およびリン酸化タンパク質群の解析に着手した点が独創的である。植物ホルモン情報伝達系、mRNA成熟に関与するタンパク質およびリボソーム前駆体構築、さらにクロマチン構造がダイナミックに変動していることを解明した点において新規性がある。冠水ストレス応答機構を解析する一方で、冠水抵抗性を示す素材を利用し、新規タンパク質群の合成抑制、抗酸化酵素の活性亢進、細胞壁弛緩の緩和に関する機構を解明し、ダイズに冠水抵抗性を付与する技術につなげようとした点は、高く評価される。

平成28年7月11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。