

氏名	FARIDA DAMAYANTI
学位の種類	博士（農学）
学位記番号	博 甲 第 9315 号
学位授与年月日	令和元年10月31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	Genetic and Physiological Characterization of Tomato F-box Gene <i>HAWAIIAN SKIRT</i> Mutants (トマトの F-Box 遺伝子 <i>HAWAIIAN SKIRT</i> 変異体の遺伝生理学的解析)
主査	筑波大学 教授 博士（農学） 江面 浩
副査	筑波大学 准教授 博士（農学） 福田 直也
副査	筑波大学 准教授 博士（農学） 有泉 亨
副査	筑波大学 教授 博士（農学） 三浦 謙治

論 文 の 要 旨

審査対象論文は、所属研究グループが保有する実験トマト品種マイクロトムの大規模変異体集団から選抜した単為結果性と高 Brix 値を示す変異体 (TOMJPE8986) を材料に、トマトの果実形成、特に着果誘導に関わる新規遺伝子の単離と機能解析を行った研究である。

著者は、ラフマッピングと全ゲノムシーケンス技術を併用し、TOMJPE8986 変異体の原因遺伝子候補として *Solyc01g095370* を同定した。タンパク質アラインメント解析の結果、当該遺伝子は、F-box 遺伝子に属し、シロイヌナズナで報告されている *HAWAIIAN SKIRT* (*AtHWS*) のオーソログ遺伝子であると強く示唆された。TOMJPE8986 変異体は小葉の融合や鋸歯の減少などの形態変化が見られた。これはシロイヌナズナの *athws-1* 変異体に類似した形質である。続いて、マイクロトム大規模変異体集団の TILLING プラットフォームを活用し、*Solyc01g095370* の変異体アレルを3つ (TOMJPW283、TOMJPW3299 及び TOMJPW3583) 単離した。これらの変異体は、TOMJPE8986 と同様の形態変異を示したことから、*Solyc01g095370* は *AtHWS* のオーソログ遺伝子と推定されたため、*SIHWS* と命名し、TOMJPE8986 変異体は *slhws-1* と命名した。

著者は、続いて、*slhws-1* と他の変異体を異なる環境条件下で栽培し、果実の単為結果性について評価した。その結果、何れの変異体とも高い単為結果性を示したが、その程度は栽培する環境条件により変動した。特に、変異体は夏季に高い単為結果性を示した。さらに、*slhws-1* と他の変異体とのアレリズムテストを行ったところ、TOMJPW283 と TOMJPW3299 は *slhws-1* の別アレルであると推定されたため、*slhws-2* 及び *slhws-3* と命名した。著者は、これらの研究から *SIHWS* はトマトの果実発達に関与する遺伝子であると

結論付けた。

著者は、*slhws-1* の BC₃ 世代を作成し、*SIHWS* 上の変異が植物体の生育ならびに果実発達に及ぼす影響を詳細に解析した。BC₃ 植物は、草丈の増加、長い節間、分枝の減少、小葉の融合、葉の鋸歯の減少が見られ、同変異が植物体の形態全体に影響することが明らかになった。一方、*slhws-1* の果実の大きさ、形、及び硬さは、野生型と同様となった。*slhws-1* の果実のフルクトースとグルコースの含量は野生型より有意に高い値を示したが、リコペンとβ-カロテンの含量に野生型との有意差は認められなかった。BC₃ 植物は、安定した単為結果性を示す一方で、低い種子生産能力を示した。これらは、花あたりの花粉生産量の減少、活性花粉量の減少、蒴裂開性の減少によると考えられた。更に、花器官について組織学的観察を行うと、変異体はタペータムの形態変化、四分子細胞の早期放出により、野生型に比べて相対的に花粉の質が低下していることに起因することが明らかになった。これらの観察結果は、*slhws-1* 変異は、植物体の形態変異、果実の質、花器官発達に広範に影響することが明らかになった。

著者は、さらに、*slhws-1* 変異の植物体発達に対する効果を異なる遺伝背景の品種への影響を調べるため、品種‘愛知ファースト’と品種‘Ueleie106WP’を使ってそれぞれ NIL 系統を作成した。NIL 系統を栽培し特性調査を行った結果、葉の形態、側枝の発達、種子の形成、単為結果性については、マイクロトムの遺伝背景の *slhws-1* と類似の特性を示したが、花芽形成や Brix 値については、遺伝背景の大きな影響を受けた。この観察結果は、*slhws-1* 変異の効果は、遺伝的背景の違いの影響を強く受けることを示唆している。

著者は、最後に、*slhws-1* によって変異形質が誘導される分子機構を調べるため、比較トランスクリプトーム解析を行った。近年、シロイヌナズナの研究から、*AtHWS* が miRNA の生成と機能に関与することが報告されているので、*slhws-1* における miRNA の発現レベルに着目した。その結果、第9ステージの花芽において、野生型と比べて miRNA の顕著な発現変化が見られ、特に、miR164 が葉と花の形質変化に関与していることが示唆された。さらに、雄ずい機能や蒴発達に関与する遺伝子発現の大きな違いも見られ、これらが *slhws-1* の稔性低下を誘導していると示唆された。

以上の研究結果から、著者は、TOMJPE8986 変異体の原因遺伝子は *SIHWS* であり、その変異により単為結果性や高糖度など育種学的に有用形質も誘導できるが、花粉発達不良などにより稔性低下を引き起こすことを明らかにした。

審 査 の 要 旨

著者は、果実研究のモデル植物の一つとして広く研究されているトマトを対象に、大規模変異体集団から単離した単為結果性変異体を活用し、果実着果に関わる分子機構の解明に取り組んだ。その結果、ラフマッピングと全ゲノムシーケンス解析技術を併用することで、単為結果と高糖性の制御に関わる *SIHWS* 遺伝子を同定するに至った。当該遺伝子は、シロイヌナズナの *AtHWS* のオーソログ遺伝子であるが、本遺伝子が果実着果や糖蓄積を制御することを示した点は、初めての報告である。着果誘導は果実発達の開始点であり、果菜類など果実を生産対象とする農作物の生産安定性に関わる重要段階であるが、その分子機構には未解明の部分が多い。本研究は果実着果の包括的機構を理解する上で新規知見を提供するものであり、学術研究として意義のある研究であると判断された。本成果を活用し、単為結果性や糖蓄積の制御技術を開発することも可能であり、技術開発研究としても高く評価される研究であると判断された。

令和元年9月12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。