

## 審査の結果の要旨

氏名 シンテ ハラシジ スブ ハシュ

トウジンビエ（英名 pearl millet、学名 *Pennisetum glaucum* L.）は、インドやアフリカの乾燥地・半乾燥地における重要な食料である。乾燥、高温、塩集積などの不良環境に対する耐性が極めて高いため、耕作限界地域でも栽培することができる上に栄養価も高い。その旺盛な生育から近年はエネルギー作物としても注目されている。しかし、トウジンビエの不良環境ストレスに対する耐性の機構についての研究は遅れていて、特に分子レベルでの研究はほとんど行われてこなかったが、近年トウジンビエの全ゲノム情報が公開されたので、トウジンビエを用いた解析は今後加速度的に進むと考えられる。本研究では塩ストレスに対するトウジンビエの応答について知見を得るために、いくつかの分子レベルでの解析を行った。

序論に続く第2章で申請者は、国際半乾燥地熱帯作物研究所（ICRISAT）から分譲された、耐塩性（ICMB 01222）および塩感受性（ICMB 081）トウジンビエ系統を用いて植物体に塩ストレス処理を行って葉から RNA を抽出し、塩ストレスに対する転写産物の変化を RNA-seq 解析によって網羅的に解析した。9億7千7百万リードから *de novo* アッセムブリにより得られたコンティグを解析し、総計 11,627 遺伝子が塩ストレスに応答して発現の変化を示すことがわかった。これらの遺伝子の機能について解析したところ、いくつかの代謝経路に関与するものがあることが明らかになり、ユビキチンプロテアソーム系の遺伝子やフェニルプロパノイド生合成系の遺伝子が耐塩性系統でのみ発現上昇し、それとは対照的に解糖系の遺伝子が塩感受性系統でのみ発現低下するなど、耐塩性系統および塩感受性系統で塩ストレス応答性に明らかな差があることがわかった。特に植物特異的な転写因子である SBPs (SQUAMOSA promotor binding proteins) をコードする遺伝子が耐塩性系統でのみ塩ストレスに発現応答することが顕著に見られた。

第3章で申請者は、マイクロ RNA (miRNA) の塩ストレスにおける役割に着目し、耐塩性系統（ICMB 01222）を用いて small RNA sequencing により、塩ストレス下における miRNA の発現について網羅的に解析した。1億2千6百万リードについて解析した結果、30種類の miRNA が塩ストレスにより発現上昇し、51種類の miRNA が発現の低下を示すことがわかった。特に顕著に塩ストレス応答する miRNA はこれまでに環境ストレス耐性機構に関与することが報告されている miR159 のファミリーに属していた。これらの miRNA の標的遺伝子を探索し、448

遺伝子が標的となる可能性があることがわかった。そのうち 122 遺伝子は転写因子をコードしていた。また植物ホルモンのオーキシシグナル伝達に関与する miRNA・標的遺伝子も複数同定された。塩ストレスに発現応答する miRNA はトウジンビエの染色体に隔たりなく分布していた。また miR394 ファミリーや miR408 ファミリーの miRNA などいくつかの miRNA は進化の過程で染色体上に重複したことも示唆された。

第4章で申請者は、RNA-seq 解析により塩ストレスに応答して顕著に発現が上昇することが明らかになった転写因子の遺伝子 (*pgNAC21*) の機能解析を行った。*pgNAC21* は塩ストレスだけではなく、植物ホルモンの ABA にも応答して発現上昇した。*pgNAC21* のプロモーター領域には ABA 応答性のエレメントや MYB 転写因子の結合ドメインがあった。MYB 転写因子との結合性は実験的に確かめられ、*pgNAC21* は転写活性化因子として働き、活性化領域は C 末端側にあることもわかった。*pgNAC21* をシロイヌナズナに導入して高発現させたところ、形質転換シロイヌナズナは、塩ストレス下での発芽率が高く生育量も高いなど耐塩性が向上した。シロイヌナズナの塩ストレス耐性に関与することが報告されているいくつかの遺伝子 (*GSTF6*、*COR47*、*RD20* など) の発現も上昇することがわかった。

以上のように、本研究で申請者は、これまで分子レベルでの解析がほとんど行われてこなかったトウジンビエについて、塩ストレスという環境ストレスに着目して、トウジンビエの遺伝子発現応答についての網羅的な研究を初めて行い、今後のトウジンビエ研究と育種のために非常に有用な成果を上げることができた。

これらの研究成果は、学術上応用上寄与するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。