

[別紙 2]

審査の結果の要旨

申請者氏名 孫 建強

本論文は、異質倍数体の環境ストレス応答に関する遺伝子発現解析についての論文である。異質倍数体は、異なる 2 つ以上の親種に由来するゲノムを 1 つの核内に持つ倍数体である。異質倍数体は、品種改良を目的として異種間交雑で作られた農作物に多く見られる。異質倍数体を研究することは、品種改良を目的とした効率的な交雑種の作成に役立つと考えられる。

これまでに行われた異質倍数体の遺伝子発現解析に関する研究のほとんどは、ストレス処理群と対照群の比較に重点が置かれ、異質倍数体と親種との比較はあまり行われてこなかった。また、異質倍数体の環境ストレス応答において、時系列的な変化を解析した研究も行われてこなかった。本論文は、異質倍数体の環境ストレス応答の時系列的な変化の解析を行い、また、親種の環境ストレス応答と詳細な比較を行った結果をまとめたものである。

論文は全 5 章から構成される。第 1 章は本研究の背景などの序論であり、第 2 章から第 4 章は本研究の手法、結果について述べ、第 5 章では考察や今後の展望について述べている。

第 1 章では、序論として RNA-Seq の基本的な概念と本研究で取り扱う植物 *Cardamine amara* (AA, $2x = 16$)、*C. rivularis* (RR, $2x = 16$) および *C. insueta* (RRA, $3x = 24$) の生態などについての知見をまとめている。本研究で取り扱う *C. amara* と *C. rivularis* は 2 倍体であり、前者は河川沿いなどの水辺のニッチで生息し、後者は比較的乾燥したニッチで生息していることを述べている。また、両者が自然交雑することによって誕生した異質倍数体 *C. insueta* は、親種に比べて水辺から比較的乾燥したニッチまで幅広く生息していることを述べている。

第 2 章では、実験デザインおよびデータ解析の手法を中心に述べている。具体的には、*C. amara*、*C. rivularis* および *C. insueta* の 3 種の植物を冠水させて、それぞれ 0 時間、2 時間、4 時間、8 時間、12 時間、24 時間、48 時間、72 時間および 96 時間後の葉組織の遺伝子発現量を測定した RNA-Seq データを解析したことを述べている。*C. insueta* は、*C. amara* に由来するゲノム (A ゲノム) と *C. rivularis* に由来するゲノム (R ゲノム) の両方を持つため、1 遺伝子 (ホメオログ) に関して A ゲノムと R ゲノム上それぞれにコピーが存在する。本研究では、ホメオログを区別して定量を行った。遺伝子発現量の定量結果により、冠水後それぞれの時間帯において、(i) *C. insueta* の A ゲノム上で発現する遺伝子の発現量は、*C. amara* の遺伝子の発現量と相関が高いこと、(ii) *C. insueta* の R ゲノム上で発現する遺伝子の発現量は、*C. rivularis* の遺伝子の発現量と相関が高いこと、および (iii) *C. insueta* の A ゲノ

ム上と R ゲノム上で発現している遺伝子（ホメオログ）の発現量の相関は、前述の 2 者に比べて低いことが明らかになった。倍数化により、親種のゲノムが交雑種に取り込まれでも、ゲノム間の相互作用が強くないことを示唆する結果が得られた。

第 3 章では、冠水後 0 時間に比べて、冠水後ほかの時間帯において、発現量に変化した発現変動遺伝子に着目した解析が行われた。3 種すべてにおいて、エチレン応答に関わる遺伝子の発現量が、冠水直後から増加していたことが示された。また、サイトカイニン応答、分裂組織の成長や酸素ストレスへの応答などに関わる遺伝子の冠水後の発現量の変化は、3 種で異なる傾向が見られたことが示された。さらに、*C. insueta* の A ゲノム上と R ゲノム上で発現している遺伝子（ホメオログ）の発現量は、冠水後に、ホメオログ同士でほぼ同じパターンで変動している傾向が強いことが示唆された。

第 4 章では、異質倍数体 *C. insueta* に対し、A ゲノムと R ゲノムで発現している遺伝子の発現量の比率（ホメオログ発現比率）に着目して行われた解析を述べている。冠水後に、ホメオログ発現比率が変化する遺伝子が少数存在することを示した。

第 5 章では、第 2 章から第 4 章までに得られた結果を総合的に検討し、今後の展望について述べている。

以上、本研究で得られた異質倍数体に環境ストレス応答に関する遺伝子発現解析について、時系列的な考察に基づいて多くの成果を産み出した。また、本研究は、異質倍数体の環境ストレス応答に関して初めての時系列的な解析について行ったものであり、学術的な意義・重要性は非常に高いものであると認める。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。