

氏 名（本籍地）	PERERA ISHARA（スリランカ民主社会主義共和国）			
学 位 の 種 類	博士（生命科学）			
報告・学位記番号	甲第 460 号（甲（生）第四十号）			
学位記授与の日付	2019 年 9 月 25 日			
学位記授与の要件	本学学位規程第 3 条第 1 項該当			
学位論文題目	Molecular Genetic Studies on the Regulation Mechanism of Phytic Acid Content in Rice Grains （和訳：イネ玄米のフィチン酸含量の制御機構に関する 分子遺伝学的研究）			
論 文 審 査 委 員	主査	教授	博士（農学）	廣津 直樹
	副査	教授	農学博士	長坂 征治
	副査	教授	博士（農学）	清水 文一
	副査	教授	博士（水産学）	宮西 伸光
	副査	Professor, National Institute of Fundamental Studies		Saman Seneweera

学位論文審査結果報告書〔甲〕

【論文審査】

本論文はイネ玄米におけるフィチン酸含量を制御する要因について論じたものであり、全5章で構成されている。

【第1章 序論】

第1章では食糧として、また栄養素の供給源としてのイネについて着目し、研究背景の概要が論じられた。まず、ヒトにとって亜鉛と鉄は不足しがちな栄養素であり、特に発展途上国では亜鉛や鉄の欠乏によって栄養障害が生じている。これらの発展途上国では肉類などの摂取は限定的であり、亜鉛や鉄のおもな供給源は穀類である。そのため、穀類からの亜鉛や鉄の摂取量を増加させることが望まれている。さらに、大気中の二酸化炭素濃度は増加し続けており、50年後には550ppmを越えることが予想されるが、この高大気二酸化炭素濃度条件下で栽培された穀物に含まれる亜鉛や鉄の含量は、現在の大気二酸化炭素濃度条件よりも低下することが報告されている。そのため、将来的に発展途上国では亜鉛や鉄の欠乏障害がさらに増えることが危惧されている。イネを主食とするアジアの発展途上国においては、イネからの亜鉛や鉄の供給量を増加させることが必要である。

フィチン酸は種子におけるリン酸の貯蔵形態であるが、穀物に含まれるフィチン酸は亜鉛や鉄などのミネラルとキレート結合し、ヒト体内の消化管でこれらのミネラルの吸収を阻害することが知られている。そのためフィチン酸含量が少ない食品はミネラルの吸収効率が良いとされている。このような状況から、穀物からの亜鉛や鉄の吸収を増加させるためには、亜鉛や鉄そのものの含量を増加させるのみではなく、フィチン酸含量を低下させることが望ましいとも考えられる。イネにおける亜鉛や鉄の吸収・蓄積に関わる機構については多くの研究が行われているのに対し、フィチン酸の蓄積についてはその機構は不明な点が多い。以上のような研究背景から、本博士学位論文ではイネにおけるフィチン酸含量の制御機構について取り扱うこととされた。

【第2章 イネにおけるフィチン酸制御機構の研究状況調査】

第2章では、イネにおけるフィチン酸制御機構の研究状況を明確にするために、論文調査とデータベース調査が行われた。これまでイネにおいてフィチン酸含量を制御する試みとして、放射線や薬剤処理によって作出された低フィチン酸変異体が報告されている。これらの変異体によって、フィチン酸の生合成経路が明らかにされつつある一方で、これらの低フィチン酸変異体は発芽率や成長速度が低く最終的な収量も低いという欠点をもつため、農業利用には適していない。生育とトレードオフのない低フィチン酸含量イネが必要である。一方で、イネにおけるフィチン酸含量には品種間差が存在することから、遺伝的な要因でフィチン酸含量が制御されていると考えられる。イネにおけるフィチン酸含量の自然変異をもたらし遺伝的要因を明らかにすることが重要である。そのために、イネゲノ

ムデータベースとマイクロアレイデータベースから、イネの発達中の種子で発現するフィチン酸生合成関連遺伝子が特定された。今後の研究の方向性として、特定された遺伝子に着目してイネのフィチン酸含量の自然変異を説明しうる要因を明らかにすることが必要であるということが示された。

【第3章 イネコアコレクションからの低フィチン酸系統の選抜とその特性評価】

第3章では、イネの自然変異を代表するコアコレクションから低フィチン酸系統の選抜と特性評価を行った。コアコレクション 69 系統の種子におけるフィチン酸含量および亜鉛含量を定量し、フィチン酸含量および亜鉛含量にそれぞれ明確な品種間差が存在することを明らかにした。さらに、ヒト体内における亜鉛の吸収量をフィチン酸および亜鉛それぞれの含量と想定される摂取量および腸内吸収定数などから算出した。亜鉛の吸収量には有意な品種間差が存在し、高亜鉛系統よりもむしろ低フィチン酸系統において高い亜鉛吸収量が示された。このことより、また選抜した低フィチン酸系統は、収量や生育など農業上重要形質との関連は見られなかった。これらのことから、イネからの亜鉛供給量を増加させるために低フィチン酸形質に着目することの有効性が示された。また、コアコレクションから選抜された低フィチン酸系統は高フィチン酸系統と比較して、他の必須元素や有害重金属の含量に差はなく、生育や収量にも影響は見られなかったことが確認された。そのため、選抜された低フィチン酸含量系統は、亜鉛の吸収効率を高めるための育種素材として有望であると考えられた。

【第4章 フィチン酸含量を制御する遺伝的要因の特定】

第4章では、コアコレクション 69 系統の遺伝子型情報を用い、ゲノムワイド関連解析によりフィチン酸含量を制御する遺伝的要因の特定を行った。ゲノムワイド関連解析の結果、フィチン酸含量と有意に関連する一塩基多型が 10 箇所特定された。しかしながら、これらの一塩基多型の周辺にフィチン酸生合成やリン酸代謝に関連する遺伝子は座乗していなかった。このことから、イネの自然変異においては、必ずしもフィチン酸生合成に関する遺伝子本体の変異によらずフィチン酸含量が制御されていると考えられた。フィチン酸含量に直接的に関与する因子を特定するため、コアコレクションから選抜された低フィチン酸系統と高フィチン酸系統を用い、フィチン酸が蓄積する時期である開花 10 日後のサンプルのプロテオーム比較が行われた。その結果、**Inositol-3-phosphate synthase 1 (INO1)**のタンパク質発現量に有意な違いが見られ、高フィチン酸系統では低フィチン酸系統と比較して 3.8 倍増加していた。このとき、遺伝子発現も高フィチン酸系統では低フィチン酸系統と比較して有意に増加していた。一方で、INO1 遺伝子およびプロモーター領域の塩基配列に低フィチン酸系統と高フィチン酸系統間で違いは見られなかったことから、INO1 遺伝子発現が何らかの因子によって制御されることによりイネのフィチン酸含量の品種間差が制御されていることが考えられ、ゲノムワイド関連解析で特定された一塩

基多型周辺にその因子が座乗していると考えられた。

【第 5 章 研究総括】

第 5 章では、研究の総括が行われた。本研究により、イネからの亜鉛供給量を増加させるために低フィチン酸含量に着目することの重要性が示された。またフィチン酸含量を制御するための遺伝的要因の特定が行われ、INO1 の遺伝子発現によってイネ自然変異におけるフィチン酸含量が制御されていることが明らかにされた。これまで低フィチン酸穀物の開発は、フィチン酸生合成遺伝子の欠損変異体によって行われてきた。本研究により、生合成遺伝子そのものの欠損ではなく、その発現量の変化により低フィチン酸を達成できること、また農業上重要な他の形質とのトレードオフを回避することが可能であることが示された。

【審査結果】

ペレーラ氏の研究は、イネからの亜鉛吸収量とフィチン酸含量との関係を整理し、イネからの亜鉛供給量を増加させるために低フィチン酸系統を利用することの有効性を示したものである。また、フィチン酸含量の品種間差をコアコレクションから明らかにし、その遺伝的制御因子を、近年発達したゲノム情報を利用した大規模解析やオミックス解析により明らかにした。さらに注目すべき点は、今回イネの自然変異から選抜した低フィチン酸形質は、他の農業上重要な形質に影響しないことを明らかにした点にある。これらの結果は、今後、低フィチン酸系統を農業利用していくための育種ターゲットとなりうるものである。多くのアジア地域の発展途上国では、イネなどの穀物からの亜鉛吸収量を増加させることが重要であると考えられている。ペレーラ氏の研究成果は、これら地域の食糧栄養状況を改善するために貢献するものであると考えられる。このように本博士学位論文は、国際的な幅広い視野に立ち、イネの遺伝資源を用いたバイオインフォマティクス解析など高度な専門性を基盤とした、これまでの研究例のない独創的なものであり、新規の知見を与えるものであると考えられる。

研究成果の一部は、査読付き国際誌に総説 1 報と原著論文 1 報としてそれぞれ掲載されており、ペレーラ氏の高い学識と研究遂行能力を示すものである。また本博士学位論文は、イネにおけるフィチン酸含量の遺伝的制御機構に関する首尾一貫した論理に支えられたものであり、研究背景の概説から一連の研究結果の総括まで、適切に執筆されている。

以上のことから、生命科学研究科（生命科学専攻）の博士学位審査基準に照らしても妥当な研究内容であると認められる。従って、所定の試験結果と論文評価に基づき、本審査委員会は全員一致を持ってペレーラ イシャラ氏の博士学位請求論文は、本学博士学位を授与するに相応しいものと判断する。