

氏名	栗田 恵理子
授与した学位	博士
専攻分野の名称	農学
学位授与番号	博甲第 7322 号
学位授与の日付	2025年 3月 25日
学位授与の要件	環境生命自然科学研究科 環境生命自然科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文の題目	The evolutionary contextualization and deep neural network modeling on fruit ripening response (果実成熟応答経路の進化的コンテキストと深層学習によるモデル化)
論文審査委員	教授 平井儀彦 教授 門田有希 准教授 河井崇 教授 牛島幸一郎
学位論文内容の要旨	
<p>Recent whole genome sequencing has revealed that lineage-specific genome duplications drive the evolution of beneficial traits, including fruit traits specific to each crop. The "climacteric fruit ripening" system, commonly regulated by ethylene, might be applicable to this concept. Studies in model crops, like tomato, have gradually unveiled that key ripening genes were independently established via lineage-specific duplications. This research aims to uncover the evolutionary context of fruit ripening genes across various plant species and to model their expression patterns established in lineage-specific manners. We assessed the diversification of ethylene-responsive gene expression in climacteric fruit ripening in angiosperms with a phylogenetic aspect. The expression responsibility to ethylene in autocatalytic ethylene-forming enzymes, such as <i>ACC synthase</i> or <i>ACC oxidase</i>, showed monophyletic evolution, originating from a single gene in the most recent common ancestor (MRCA) of angiosperms. In contrast, genes involved in cell-wall modification and NAC transcription factors exhibited lineage-specific ethylene responsiveness, originating independently from distinct genes in the MRCA. These results suggest that, although ethylene-triggered ripening behavior may look similar across species, most regulatory mechanisms independently evolved, as convergent evolution. Variation in <i>cis</i>-regulatory elements (CREs) is thought to drive lineage-specific expression behaviors in plant; predicting expression from CRE patterns is, however, still difficult due to the ambiguity and complexity in reaction involving CREs. Here, using explainable convolutional neural networks (CNNs) on the gene promoter sequences, we modeled genome-wide expression patterns in tomato and kiwifruit fruit ripening. Feature visualization of the models identified key CREs for ripening, which was experimentally validated. Tomato and kiwifruit exhibited independent key CREs, which uncovered kiwifruit-specific <i>cis-trans</i> regulatory networks important for the ripening process. This AI-based framework would allow allele design for optimized expression in each crop. We assessed a time-lapse transcriptomic data series in ethylene-treated kiwifruit, to uncover transitions of the expression networks in fruit ripening. We identified 3 chronological dynamic expression rises triggered by ethylene, where transitions from ethylene signaling to ripening reactions clearly appeared. We further conducted the described AI-based <i>cis</i>-decoding and co-expression network analysis on each rise cluster, to identify the key regulatory factors/networks.</p> <p>This study modeled the fruit ripening responses using three interdisciplinary approaches. Our results suggest that their regulatory pathways have been established as convergent evolution at least in the downstream pathways, in which lineage-specific key factors could be identified through AI-based <i>cis</i>-decoding. Furthermore, detailed time-lapse transcriptome analysis in kiwifruit revealed the transition of these regulatory pathways and key candidates for each gene network. This study not only sheds light on the evolutionary commonality and convergence in the molecular pathways of fruit ripening, but also can potentially harness the various fruit ripening traits in the future.</p>	

論文審査結果の要旨

果実の成熟は品質に直結しており、その制御は農業生産上非常に重要な事項である。果実の多くは成熟がエチレンに因って制御されるクライマクテリック型果実である。トマトはクライマクテリック型果実のモデル生物として長年利用されてきた。しかし近年、ゲノム配列が解読されたことにより、トマトが進化の過程で複数回のゲノム倍化を経ており、とくに果実成熟関連の遺伝子にはトマト（ナス科植物）特異的な遺伝子が含まれることが明らかとなっている。このことは、トマトを材料に果実成熟の分子機構が他の植物種にも応用できるモデルになり得るのかという疑問を生じさせている。

本研究では、まずエチレン合成遺伝子とその信号伝達下流の細胞壁合成酵素の進化について調査した。エチレン合成遺伝子は被子植物の最近の共通祖先（MRCA）である単一遺伝子に由来していたのに対して、エチレン信号の下流に位置する細胞壁修飾酵素のPG（Polygalacturonase）、PL（Pectate lyase）は幾つかの異なるMRCAから発生していた。つまり下流の因子は果実成熟において発現パターンは似ているが、異なる機構が働いている収斂進化であると考えられた。このことは果実成熟の分子機構のモデルは、個々の植物で構築する必要があることを示唆している。そこで、トマトとキウイフルーツにおいて、新たなモデルの構築を試みている。その中でもシス調節エレメント（CRE）の変異は、植物の系統特異的な発現挙動を駆動すると考えられた。しかし、CREパターンからの発現予測は、CREが関与する反応の曖昧さや複雑さのため困難であった。そこで深層学習を組み合わせる事で、果実成熟に関与するCREの特定を行い、トマトとキウイフルーツは独立したキーCREを示し、キウイフルーツ特有のシス-トランス制御ネットワークが成熟プロセスに重要であることが明らかになった。

この様に本研究では果実成熟機構のモデル化に関する提言から、それに深層学習を組み合わせた手法が有効である事を証明した。新規性はもちろん、今後の果実成熟研究において重要な知見を提示しており、今後のこの分野の発展に新たな展開をもたらす重要な研究になると期待される。また、本論文は本コースの早期修了要件を満たしている。以上のことから、本論文の成果は博士（農学）の学位に値すると判定した。