

論文内容の要旨

申請者氏名 安藤 候平

植物の環境応答と生長の分子メカニズムを包括的に解明するために、シロイヌナズナを材料として、効率良く様々な種類の cDNA を獲得可能な均一化 cDNA ライブラリーをマイクロアレイ技術に適用し、系統的な遺伝子発現解析を行った。

花序茎頂、葉、栄養生長期茎頂、根由来の均一化 cDNA ライブラリーを作製した。そして、均一化 cDNA ライブラリー由来の 7914 クローンに関する塩基配列決定を行い、独立した 5722 種類の cDNA を収集した。つまり、均一化操作により cDNA 種が効率良く収集できたことが示された。次に、cDNA マイクロアレイを作製し、cDNA マイクロアレイ実験の信頼性が高いことを明らかにした。

植物器官における各遺伝子発現特異性を調べるために、DNA マイクロアレイを利用して、5241 遺伝子の花、茎、葉、根に関する遺伝子発現解析を行った。ペアワイズコリレーション法による解析を行った結果、遺伝子発現のプロフィールにおいても花と葉は最も近縁関係にあり、根は他の地上部 3 器官と比較して最も遠い関係にあることが支持された。次に、k-means クラスタリング法により遺伝子を分類した結果、葉で発現特異性が高い遺伝子群は、葉緑体移行タンパク質をコードする遺伝子がその 40% を占めた。さらに、根での発現特異性の高い遺伝子群では、分泌タンパク質をコードするものが 35% を占めた。器官における遺伝子の発現特異性が包括的レベルにおいても細胞や組織の生理特性を反映したものであることを確認した。

環境応答における遺伝子発現ネットワークの解析の例として、植物の芽生えにおける光環境応答に注目し解析を進めた。遠赤色光高照射反応(FR-HIR)の光応答初期における系統的な遺伝子発現に関して、フィコシアノビルリン(PCB)をフィトクロム発色団に持つ発色団改変植物体(PCYA1)と *phyA* 変異体を材料として遺伝子発現の比較解析を行った。暗所芽生えに 730、715、695nm の単色光を間歇照射した植物体の系統的な遺伝子発現解析の結果、PCB を発色団とする *phyA* は、波長特性は短波長側に移行させることで、下流遺伝子群に正常なシグナル伝達を起こすことが明らかとなった。これまでの PCYA1 の胚軸伸長抑制を生理的に調べた表現型観察の結果、すなわち PCB を発色団とする *phyA* 分子種によって引き起こされる生理応答の波長域が短波長側に移行することが分子レベルからも確認された。さらに、胚軸伸長抑制の FR-HIR とは異なる挙動の遺伝子群の存在を同定することができた。すなわち、マイクロアレイを用いた包括的手法により植物の光応答に対する全体像の知見を得ることができた。

以上のことから、cDNA マイクロアレイを用いた系統的な遺伝子発現解析は、生理現象に反映した遺伝子の発現様式の知見を得ることが可能であり、また、生理表現型のみでは発見が困難な遺伝子発現制御に関する知見の蓄積にも有効であることが明らかになった。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 安藤 候平

本研究論文は、植物の環境応答と生長に関する分子レベルでの包括的理解のために、モデル植物であるシロイヌナズナを用いて、系統的な遺伝子発現解析技術を確立し、植物の生長における遺伝子発現制御に関する解析を行い、その有効性に関して議論したものである。

系統的な発現解析技術として、均一化 cDNA ライブラリーを適用した cDNA マイクロアレイ系を構築した。均一化 cDNA ライブラリーを利用することで、効率良く様々な cDNA 種を獲得できることを明らかにした。このことは、短時間に多くの cDNA 種を持つ cDNA マイクロアレイ系の構築が可能であり、塩基配列情報などが乏しい植物種を解析する場合の基礎的な知見となる。

開発した cDNA マイクロアレイを利用して、植物の各器官の遺伝子発現解析を行うことで、植物の全体像を捉え、従来の個別解析では証明できなかった知見を得ることが可能であった。また、各器官で特異的に発現する遺伝子も迅速に収集することが可能であった。このことは、cDNA マイクロアレイが全体像を捉えることに有効であるとともに、遺伝子同定を行う場合にも優れた解析技術であることが示されており、これは今後の様々な研究に応用可能な基盤的な知見と言える。

フィトクロム発色団改変型植物体を用いた FR-HIR の解析から、生理表現型と系統的な遺伝子発現解析結果の高い相関性が確認された。さらに、系統的な遺伝子発現解析を行うことで、光環境応答における遺伝子発現制御の巧みな分子機構の存在も示唆された。つまり、cDNA マイクロアレイ解析は、植物の環境応答、生理応答を包括的に解析可能であることが示された点は意義深い。また、従来遺伝学的に解析されている生理表現型に加えて、系統的な遺伝子発現解析により、植物の環境応答、生理応答における情報伝達系の遺伝的な関係の知見を得たことは、植物科学における成果として評価できる。

以上のように、本論文は、植物の環境応答と生長における遺伝子発現制御の全体像に関して、系統的な遺伝子発現解析技術を確立後、実際に器官特異的遺伝子と光環境応答遺伝子の解析を通して、新たな知見を見出したものであり、学術上、応用上貢献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（バイオサイエンス）の学位論文として価値あるものと認めた。