

論文内容の要旨

申請者氏名 崔 莊善

メチル化酵素を抑制した組換えタバコで発現が亢進した遺伝子のひとつとして、アルミニウム応答遺伝子が発見された。本研究では、その特徴づけとストレス応答時のメチル化の役割について解析した。全長 cDNA を単離、解析した結果、微生物のグリセロホスホジエステラーゼと相同性の高い蛋白質をコードしており、*NtGPD*L と名付けた。*NtGPD*L はアルミニウムストレスに応答して数時間で発現が上昇した。塩、低温、活性酸素種などの非生物ストレスにも応答したが、病原菌感染には応答しなかった。*NtGPD*L 遺伝子座は高度にメチル化されていたが、アルミニウムストレスに晒すと 1 時間以内に部分的な脱メチル化が生ずることをサザンブロットによって観察した。さらに、プロモーター とコーディング領域のバイサルファイトによるメチレーションマッピングをおこなった結果、プロモーター領域は未処理株、処理株ともに全くメチル化されていなかった。しかし、コーディング領域は、未処理株の CG 配列が高メチル化されており、それはイントロンよりエクソンで顕著であった。アルミニウムとバラコート処理で、この領域が部分的に脱メチル化された。アルミニウム、塩、低温は活性酸素を生ずることが知られているので、これらの結果は、酸化ストレスによって *NtGPD*L が部分的に脱メチル化され、結果的に発現が誘導されたことを示唆した。ついで、脱メチル化機構を検索した。シロイヌナズナでは脱メチル化酵素 ROS1 が記載されているので、それと相同性があるタバコ遺伝子を探索した結果、4 遺伝子が単離され、*NtROS* と名づけた。これらはアルミニウム、塩、パラコートに応答して発現が誘導された。*NtROS*1 と *NtROS* 2a 蛋白質は核に局在し、脱メチル化活性を示すことも分かった。これらの結果からタバコは酸化ストレスに応答して、ゲノム DNA を脱メチル化し、対応する遺伝子の発現を促進することが示唆された。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 崔 莊善

シトシンの 5 位にメチル基が付加される現象は DNA のメチル化と呼ばれ、広く生物界で見られる。DNA メチル化は、DNA メチル化酵素により触媒され、脱メチル化酵素によって除去される。自己遺伝子の発現調節、外来 DNA の不活性化などに機能する。通常、プロモーター領域がメチル化されると発現が不活性化され、脱メチル化により活性化される。最近の DNA メチル化研究で、遺伝子の領域はさまざまな DNA メチル化パターンがあることが明らかにされた。しかし、多様な DNA メチル化パターンと遺伝子発現がどのように関連するかは明らかではない。生物は環境変化に対応して適切な遺伝子をスイッチオン／オフするが、同時にゲノム DNA の脱メチル化が生ずることが報告されている。このことは、ストレスにตอบสนองして DNA メチル化レベルが変化し、遺伝子発現が調節されることを示唆する。本研究ではこの仮説を検証するため、タバコを用いて、環境ストレスによるメチル化変化と遺伝子の発現を解析した。

モデル系として、メチル化酵素をアンチセンスで抑制した組換えタバコより同定されたグリセロホスホジエステラーゼ遺伝子、*NtGPD*L を選んだ。*NtGPD*L はアルミニウムにตอบสนองして発現することが知られていた。そこで、アルミニウムストレス応答を詳しく検討した結果、*NtGPD*L 座は酸化ストレスによって脱メチル化されること、同時に発現が誘導されることが明らかになった。続いて、脱メチル化酵素の単離と機能解析をおこなった。これらの研究から、植物は環境ストレスにตอบสนองして脱メチル化酵素を活性化すること、それによってストレス応答遺伝子領域を脱メチル化し、転写を誘導、生成された蛋白質がストレスに対応することが示唆された。

以上のように、本論文は DNA メチル化／脱メチル化の分子機構の一端を明らかにしたもので、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。