

論文審査の結果の要旨

氏名 得平茂樹

本論文は 4 章からなり、第 1 章はシアノバクテリアの環境ストレス応答に関して、これまでに蓄積されている一般的知識について、第 2 章では *Anabaena* DNA マイクロアレイを用いた窒素欠乏による遺伝子発現の変化の解析について、第 3 章では低温において転写産物量が増加する遺伝子の同定について、第 4 章では低温誘導性遺伝子 *rbpA1* の発現調節の解析結果について述べられている。これまで、環境変化により発現量が増加し、その変化への適応に重要な役割を果たす遺伝子が多く知られている。しかし、それらの遺伝子の発現調節に関しては、未だ明らかとなっていない点が多く残されている。本研究では、シアノバクテリア *Anabaena* における窒素源の欠乏と生育温度の低下に応答する遺伝子の発現調節機構を解析した。

Anabaena sp. PCC 7120 は、細胞が数珠のように連なった糸状性のシアノバクテリアで、培地中の窒素源が不足するとヘテロシストと呼ばれる細胞を分化させ、窒素固定を行うことができる。第二章においては、培地中の窒素源を除いたあとの遺伝子発現の変化を DNA マイクロアレイにより解析した。その結果、培地中の窒素源を除いたあと 24 時間までに、一過的にでも発現量が増加する ORF が約 600 個あると推定された。また、ヘテロシスト分化の過程で、発現量が増加する ORF が集中して存在しているゲノム領域が 4 ヶ所あった。このような場所では、20 個前後の ORF を含む 30 kb 近い領域全体の発現が増加していた。ヘテロシスト分化の過程で、個々の遺伝子やオペロンをこえて、30 kb 近い大きな領域の発現を一括して調節する機構が存在していることが示唆された。さらに、本研究で用いた *Anabaena* DNA マイクロアレイが転写産物量の変化を的確に検出することができ、遺伝子の発現調節の研究において有用であることが示された。

第 3 章においては、生育温度の低下に伴う遺伝子発現の変化を DNA マイクロアレイにより解析した。光合成生物においては、光照射下での低温へのシフトは、生育温度の低下であると同時に相対的な光強度の増加として働き、光化学系の酸化還元状態に影響を及ぼす。このような複合的な影響が、低温への応答機構の解明を複雑なものとしている。そこで、低温の影響を光化学系の酸化還元状態の影響から分離するために、光照射下での低温シフト、暗所へのシフト、そして暗所での低温シフトの 3 条件における遺伝子発現の変化をマイクロアレイにより解析した。その結果、光化学系の

酸化還元状態に関わらず、低温により転写産物量が増加する ORF を 15 個同定した。これらの ORF は、低温への適応において、重要な役割を果たしていると考えられる。また、その発現調節機構の解析は、低温シグナルの伝達機構の解明につながると期待される。

第 4 章においては、低温により転写産物量が増加する ORF の内の一つ、*rbpA1* の発現調節機構を明らかにするため、*lacZ* 遺伝子をレポーターとして用い、発現調節に働く *cis* 配列の検索を行った。転写産物の低温での蓄積には、*rbpA1* の 5'非翻訳領域 (5'-UTR) が必要であり、また、5'-UTR によりプロモーター非依存的に転写産物の蓄積が起こることが示された。5'-UTR による転写産物の蓄積は、主に転写産物の安定化によりなされ、その安定化にはリボソームの結合が必要であることも示された。さらに、テトラサイクリンにより引き起こされるリボソームの状態変化により、低温応答遺伝子の転写産物量が高温においても増加することが示された。リボソームは、低温においてその構造が不安定化することが知られており、リボソームの状態変化が低温応答遺伝子の発現を調節している可能性が示唆された。

シアノバクテリア *Synechocystis* PCC 6803 において、2 成分制御系が低温シグナルの伝達に働くことが示されている。しかし、マイクロアレイ解析により、そのほかにも低温シグナルの伝達系が存在していることが示唆されていた。本研究では、低温の影響を光化学系の酸化還元状態の影響から分離することで、生育温度の低下にตอบสนองして転写産物量が増加する遺伝子を同定した。そして、その発現調節解析により、シアノバクテリアにリボソームの状態変化を介したもう一つの低温シグナル伝達系が存在することを示した。

なお、本論文の第 2 章、第 3 章、第 4 章は、佐藤直樹、大森正之との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士 (理学) の学位を授与できると認める。