

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 佐々木 江理子

植物ホルモンは固有の機能を持ちながらも、互いに拮抗的あるいは協調的に作用し合い、時期や組織に特異的な作用を及ぼす。この相互作用機構(クロストーク)は、ホルモンの機能に多様性を生み出す一因となっている。このためホルモン研究においてクロストークの解析は重要であるが、一斉分析における微量ホルモンの定量が困難である他、普遍的に利用できるホルモン応答性のマーカー遺伝子が少ないなど技術的な課題も多く、明らかにされていない点が多い。植物ホルモンの研究を発展させる為には、全体を俯瞰するような包括的な解析技術が必要である。そこで本博士論文研究では、ホルモンネットワークの全体像をとらえるためのアプローチとして、シロイヌナズナのオミクスデータを利用し、植物ホルモンのクロストークや生長、代謝調節機構の予測を試みた。

2章では、マイクロアレイデータを用いて、シロイヌナズナの複数ホルモンへの応答状態を同一試料から一斉に解析する簡易な手法を構築した。ホルモン応答性遺伝子群の発現プロファイルを各ホルモンについて定義し、これらと解析対象とするマイクロアレイデータの間の発現変動の相関を求めることにより、高い精度でホルモン応答の一斉解析が可能になった。本手法の特徴は、複数の応答性遺伝子群の発現変動パターンを解析するため、個々のマーカー遺伝子の発現特異性の影響を受けにくく、安定した解析を行うことができる点である。

3章では、前章の植物ホルモン応答の一斉解析法を発展させ、マイクロアレイ実験から得られた遺伝子発現プロファイル群の間に存在する生物学的なつながりを予測する有方向性ネットワーク解析法を構築した。プロファイルごとに、実験処理に対して発現量が変動する遺伝子群を統計的な閾値で選抜し、これらの遺伝子群のプロファイル(モジュール)を用いた相関解析によってプロファイル間の類似性の予測することで、大規模なプロファイルの生理的なつながりを明らかにすることができた。本手法の特徴は、すべての遺伝子群のプロファイルを比較する従来のクラスタリング法と異なり、モジュールの発現パターンを比較するため、実験環境や組織の違いなどに起因するノイズの影響を受けにくいことである。この解析を用いて、マイクロアレイ公開データベース上の多数の実験データのネットワーク(リレーションマップ)を構築し、シロイヌナズナのプロファイル間の様々なつながりを明らかにした。リレーションマップの閲覧と、同解析を研究者に提供するツール AtCAST の開発、公開を行った。

4章では2章、3章で構築した解析系を適用して、サイトカイニンの応答を低下させる化合物としてウニコナゾールを特定し、この既知の化合物がサイトカイニンの内生量を減少させる機能を有することを一連の実験で示した。ウニコナゾールは、活性型サイトカイニンである *t*zeatin の生合成経路に含まれる P450 酵素 CYP735A の阻害活性を有しており、*t*zeatin の内生量を減少させた。サイトカイニンは生合成阻害剤や通常の生育条件下で内生量が減少する変異体が見つかっていないため、効果的に活性型サイトカイニンの内生量を減少させるリード化合物と、その標的が示されたことは有用性が高い。また、以上の結果は、ホルモン

応答の簡易一斉検出法やリレーションマップの解析結果が、植物体内の応答の変化と一致しており、化合物の機能予測に利用可能なことを一例として示した。

5 章では理研メタボローム基盤研究グループとの共同研究により、シロイヌナズナのホルモン変異体のトランスクリプトームおよびメタボローム解析を行い、各変異体で発現量や蓄積量の変動している遺伝子および化合物を特定した。ジベレリンに着目して遺伝子と化合物の変動傾向を調べた結果、ジベレリン生合成や信号伝達の欠損変異体では、糖合成、二次代謝、細胞壁の伸展機能などに変化が生ずることが明らかになった。また、本研究で取得した大規模なオミクスデータを用いて遺伝子と代謝物の共発現解析を行った結果、植物ホルモン生合成遺伝子、応答性遺伝子は、有機酸や糖などの化合物の蓄積と相関のある発現パターンを示すものが多いことが示唆された。

以上、本研究ではシロイヌナズナのオミクスデータを利用し、複数ホルモンへの応答状態を同一試料から一斉に解析する簡易手法と、遺伝子発現プロファイル群間の相関性を予測する有方向性ネットワーク解析法を確立した。さらに、これらの手法を適用して既知のホルモン阻害剤の機能を再解析し、解析結果に基づく一連の実験から、ウニコナゾールがサイトカイニンの生合成を阻害することを明らかにした。また、ホルモン変異体のオミクス解析を行い、遺伝子発現、化合物蓄積変動プロファイルを明らかにした。これらの結果は学術的にも応用的にも寄与するところが多い。よって審査委員一同は、本研究が博士(農学)の学位論文として価値あるものと認めた。