

Title	Analysis of symbiotic mechanism between Lotus japonicus and Mesorhizobium loti by transcript profiling with microarray
Author(s)	前川, 隆紀
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45814
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について〈/a〉をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	前 川 隆 紀
博士の専攻分野の名称	博士(工学)
学位記番号	第 19463 号
学位授与年月日	平成 17 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 工学研究科応用生物工学専攻
学位論文名	Analysis of symbiotic mechanism between <i>Lotus japonicus</i> and <i>Mesorhizobium loti</i> by transcript profiling with macroarray (マメ科植物と根粒菌の共生機構に関する網羅的遺伝子発現解析)
論文審査委員	(主査) 教授 室岡 義勝 (副査) 教授 原島 俊 教授 福井 希一 教授 小林 昭雄 教授 大竹 久夫 教授 卜部 格 教授 金谷 茂則 教授 塩谷 捨明 教授 関 達治 教授 仁平 卓也 教授 清水 浩

論文内容の要旨

本研究では網羅的遺伝子発現解析の手法により根粒菌 (*Mesorhizobium loti*) とマメ科植物ミヤコグサ (*Lotus japonicus*)、それぞれにおける共生に関わる因子の同定を行った。本論文は緒論 (1 章)、本文 (2、3、4 章)、総括 (5 章) より構成されている。

緒論ではマメ科植物と根粒菌の共生の仕組みや、マメ科モデル共生系としての *M. loti* と *L. japonicus* の特徴について述べ、最後にマクロアレイを始めとする現在までに蓄積されている研究基盤について記述した。

第 2 章では作成した根粒菌マクロアレイを用いて、バクテロイド、微好気、栄養飢餓における根粒菌の遺伝子発現プロファイル解析した。共生状態であるバクテロイドではシンバイオシスアイランドと呼ばれる領域を含め、遺伝子が強く発現する領域がクラスターとなって存在していることを見出した。また、これらの中には微好気条件での発現領域と重複する領域も見られたことから、これらの遺伝子発現は微好気条件が発現を促すシグナルとなっていることが示唆された。さらに、バクテロイドで強く発現が見られた、植物ホルモンであるエチレンの合成を阻害する ACC デアミナーゼ遺伝子の破壊株を作成したところ、根粒着生能に低下が見られた。以上のことから、今回得た発現プロファイルを用いて高発現する遺伝子の機能を遺伝子破壊などによって調べることは、未だ機能がわかっていない遺伝子の役割を知る上での有効な手段であることが示唆された。

第 3 章ではミヤコグサの根毛で強く発現する遺伝子を cDNA-AFLP (amplified fragment length polymorphism) 法によって単離を試みた。cDNA-AFLP 法によるバンドパターンの比較から二つの遺伝子、LjRH101 と LjRH102 をマーカー遺伝子の候補として得た。これらの遺伝子はそれぞれペルオキシダーゼとキシログルカンエンドトランスグリコシラーゼをコードしていた。リアルタイム RT-PCR 法による組織別の発現解析の結果、この二つの遺伝子は根やシュートに比べて根毛で非常に高い発現を示したことから、ミヤコグサ根毛の有用なマーカー遺伝子であることが示された。

第 4 章では作成したミヤコグサマクロアレイを用いて根毛において硝酸態窒素に応答する遺伝子の発現プロファ

イルを解析した。硝酸態窒素に対して発現が低下した遺伝子は植物ホルモンであるジャスモン酸に応答することが知られている遺伝子であるという共通性が見られた。このことから、硝酸態窒素による根粒菌感染阻害はジャスモン酸量もしくはそのシグナリングの抑制に起因していると考えられた。そこで硝酸態窒素を前処理することで根粒菌の感染が阻害された植物体にジャスモン酸を添加することで根粒菌の感染が回復するかを調べたところ予想どおり回復効果を示した。以上の結果は、世界で初めて根毛を用いた網羅的遺伝子発現解析ということだけでなく、植物ホルモンであるジャスモン酸の新たな役割を示すものとなった。

総括では本研究で得られた知見をまとめ、根粒菌と宿主植物との間で取り交わされる反応モデルを提唱した。

論文審査の結果の要旨

本研究は網羅的遺伝子発現解析の手法により根粒菌 (*Mesorhizobium loti*) とマメ科植物ミヤコグサ (*Lotus japonicus*)、それぞれにおける共生に関わる因子の同定を行ったものである。これらの成果の要約は以下の通りである。

(1) 根粒菌マクロアレイを用いてバクテロイド、微好気、栄養飢餓における根粒菌の遺伝子発現プロファイルを解析している。共生状態であるバクテロイドではシンバイオシスアイランドと呼ばれる領域を含め、遺伝子が強く発現する領域がクラスターとなって存在していることを発見している。また、これらクラスターの中には微好気条件での発現領域と重複する領域も見られたことから、これらの遺伝子発現は微好気条件が発現を促すシグナルとなっていることを示唆する結果を得ている。さらに、バクテロイドで強く発現が見られた、植物ホルモンであるエチレンの合成を阻害する ACC デアミナーゼ遺伝子の破壊株を作成し、この遺伝子が根粒着生に寄与することを示している。以上のことから、今回得た発現プロファイルを用いて高発現する遺伝子の機能を遺伝子破壊などによって調べる手法により、未だ機能がわかっていない遺伝子の役割を知る有効な手段となることを示している。

(2) ミヤコグサの根毛で強く発現する遺伝子を cDNA-AFLP (amplified fragment length polymorphism) 法によって単離している。cDNA-AFLP 法によるバンドパターンの比較から二つの遺伝子、LjRH101 と LjRH102 をマーカー遺伝子の候補として取得し、これらの遺伝子がそれぞれペルオキシダーゼとキシログルカンエンドトランスグリコシラーゼをコードすることを示している。リアルタイム RT-PCR 法による組織別の発現解析により、この二つの遺伝子が根やシュートに比べて根毛で非常に高い発現を示したことから、ミヤコグサ根毛の有用なマーカー遺伝子として有効であることを明らかにしている。

(3) ミヤコグサマクロアレイを用いて根毛において硝酸態窒素に反応する遺伝子の発現プロファイルを解析している。硝酸態窒素に対して発現が低下した遺伝子が植物ホルモンであるジャスモン酸に反応することが知られている遺伝子であるという共通性を見出している。このことから、硝酸態窒素による根粒菌感染阻害はジャスモン酸量もしくはそのシグナリングの抑制に起因していると推論し、硝酸態窒素により、根粒菌感染が阻害された植物体へのジャスモン酸の影響を調べ、実際に抑圧することを明らかにしている。

以上のように、本論文は窒素固定共生系に関する知見を根粒菌と宿主植物側の両側から解析し、植物ホルモンであるジャスモン酸の新たな役割など、いくつかの重要な新しい知見を得ている。これは生物資源工学及び共生情報工学の発展に少なからず寄与するものである。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。