

(続紙 1)

京都大学	博士 (生命科学)	氏名	川村 昇吾
論文題目	苔類ゼニゴケにおけるデータベース整備及びそれを活用した植物特異的なメチル基転移酵素ファミリー遺伝子の解析		
(論文内容の要旨)			
<p>維管束植物と姉妹群を形成するコケ植物は、陸上植物における遺伝子の多様性や保存性の研究において重要な位置を占めている。苔類ゼニゴケは、ゲノム解読によって、制御遺伝子の冗長性が低く、一方で多様な代謝遺伝子を保持していることが明らかにされた。様々な分子生物学的実験基盤が整備されており、植物の進化や発生の研究で重要なモデル植物として利用されている。一方で、RNA Sequencing (RNAseq)データを含めて多様な公開データが蓄積され、これらを活用したデータ駆動による研究の推進と、実際の植物における実験に基づく機能解析をシームレスに行える基盤を整備することが課題となっていた。本論文では、ゼニゴケの情報科学的実験基盤の整備を行った。RNA Seq法は、網羅性と高い感度から遺伝子発現解析に多数利用され、そのデータは、Sequence Read Archiveに蓄積されている。データの再解析によって多くの知見が得られると期待されるが、実験生物学者がこれらのデータを解析することは容易ではなく、各モデル生物にはその利用を簡便にするための二次データベースが数多く存在する。そこで、ゼニゴケにおいて、公開データの可視化・解析が可能なWebベースのデータベースMarpolBase Expression (MBEX)を開発した。MBEXでは、発現量データの可視化、共発現解析、発現変動遺伝子の検出、機能エンリッチメント解析を行うことができる。MBEXを用いて、苔類特異的な細胞小器官である油体を持ち、多様な二次代謝産物の生合成を行う油体細胞を対象に解析を行った。油体細胞の二次代謝の生合成経路の解析を行ったところ、既知の代謝遺伝子を同定できた。さらに、油体細胞の二次代謝に関わるテルペノイド生合成遺伝子群を推定した。以上の結果から、MBEXはゼニゴケの遺伝子発現解析に有用なツールであることが確認された。次に、構築したデータベースの情報を利用して、低分子化合物のメチル基転移酵素(MT)であるSalicylic Acid MT、Benzoic Acid MT and Theobromine MT (SABATH)ファミリーの解析を行った。植物は、環境応答や成長調節のために植物ホルモンをはじめとした低分子化合物を利用したシグナル伝達を行う。ジベレリン(GA)は、被子植物において様々な生理活性を示す重要な植物ホルモンである。一方で、コケ植物を用いた研究によって、GAは進化的に多様な化合物やシグナル伝達経路を持つことが近年明らかにされつつあり、ゼニゴケでは被子植物とは異なる活性化合物(GA_{Mp})とシグナル伝達経路を持つことが示唆されている。系統解析の結果、SABATHファミリーはそれぞれの系統内で多様化し、種にとって重要な化合物のメチル化活性を獲得していることが示唆された。さらに、ゼニゴケのSABATHファミリー遺伝子の1つであるMpSABATH2の機能解析を行った。MpSABATH2の変異体(Mpsabath2)は、栄養成長と無性生殖の抑制、非誘導条件下における生殖器官形成が観察された。これらの表現型は、GA初発生合成経路の変異によって部分的に抑圧された。このことからMpsabath2の表現型はGA_{Mp}の蓄積によるものであること、ゼニゴケではGA_{Mp}の蓄積により生殖器官形成が引き起こされることが示唆された。本研究によって苔類で多様化したSABATHファミリー遺伝子がGA_{Mp}のメチル化能を獲得することで、ゼニゴケの正常な発達と発生を制御していることが示唆された。</p> <p>本研究では、ゼニゴケの公開RNAseqデータを用いた情報科学的基盤であるMBEXを開発した。その適用例として、油体を対象として解析を行い、二次代謝生合成経路遺伝子の候補を同定した。さらに、整備した情報基盤を活用しながら、GA_{Mp}のメチル化を制御するSABATHファミリーがゼニゴケの正常な発達と発生に必要なことを明らかにした。本研究で整備された情報科学的解析基盤を用いることで、ゼニゴケを用いた進化的、発生学的な研究が加速し、陸上植物の進化と発生のさらなる理解へとつながることが期待される。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

コケ植物苔類ゼニゴケは、遺伝子冗長性の低さ、進化的位置づけ、および分子遺伝学的実験基盤の整備などを背景として、近年モデル生物としての利用が盛んに行われている。本学位論文の第一章では、公開データベースの登録されたRNAseqデータに基づくゼニゴケの遺伝子発現解析のプラットフォームMBEXを整備し、その有効性の検証を行なった。MBEXには公開データの可視化と解析機能が備わり、実験生物学者が既存のデータを容易に再解析する環境が実現している。具体的には、時空間的発現量データの可視化と比較、遺伝子共発現解析、発現変動遺伝子の検出、機能エンリッチメント解析が提供されている。また、この解析の有効性を油体細胞の遺伝子発現解析を例に検証し、油体細胞特異的な二次代謝経路遺伝子が検出されることを示している。さらに、テルペン代謝に関わる新たな関連遺伝子の推定も行い、MBEXの有効性を示すことに成功している。この過程では、遺伝子コード番号のみが付与された遺伝子の遺伝子名の登録、RNAseqデータの公開データベース登録のためのプラットフォーム整備といった地道な作業も行っており、成果の背後にある申請者の工夫のうえに成果が得られたことも評価できる。このデータベースは、研究者コミュニティに大きな便宜を提供し、ゼニゴケをモデル生物として扱う研究を加速することが期待できる。

本論文の第二章では、構築した発現データベースの解析から注目した低分子化合物へのメチル基転移酵素(SABATH)遺伝子の解析を進めた。分子系統解析により、SABATH遺伝子が陸上植物進化の基部でコケ植物型と維管束植物型に分岐し、それぞれのクレードで多様化するという独自の進化を示した。機能欠損変異体が強い表現型を示すMpSABATH2遺伝子に着目し解析を進めた。得られた変異表現型を遺伝子発現、面積や成長方向、クロロフィルやデンプン蓄積といったデータで定量的に示した。さらにRNAseq法を利用してMpsabath2における網羅的な遺伝子発現解析を進め、機能推定を行なった。さらに、表現型からMpSABATH2がゼニゴケのジベレリン様化合物を基質とする仮説を示し、生合成酵素遺伝子変異や生合成酵素阻害剤によるMpsabath2表現型の抑圧および中間化合物による抑圧表現型の復帰などで検証した。最終的な結論を得るには生化学的解析が必須であるが、機能推定と遺伝学的検証を論理的に的確に進めた点は評価できる。

本論文では、情報科学的知識を背景としてゼニゴケの遺伝子発現解析の基盤となるMBEXを開発したこと、それを活用しつつ分子遺伝学的にメチル基転移酵素に関わるゼニゴケの発生分化に対する低分子化合物制御が存在することを見出したことといった成果が明確に示されている。さらに情報科学的解析と分子遺伝学的解析を合わせて実施した点は高く評価できる。

以上のように、本論文は生命科学に関する高度で幅広い学識、大規模発現データを用いた情報解析能力、植物科学分野における優れた研究能力、そして生命科学の理解・発展に寄与する新しい発見もしくは概念等が示されており、論理的かつ一貫性を持って記述されている。よって博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認めた。更に、令和5年8月9日論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第8条の規定により、猶予期間は学位授与日から3ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日： 年 月 日