

氏 名 鎌 田 知 江

学位（専攻分野） 博士(理学)

学 位 記 番 号 総研大甲第774号

学位授与の日付 平成16年3月24日

学位授与の要件 生命科学研究科 分子生物機構論専攻

学位規則第4条第1項該当

学 位 論 文 題 目 Transcriptome Analysis of Peroxisomal  
Differentiation and the Functional  
Transition in *Arabidopsis thaliana*

論 文 審 査 委 員 主 査 教授 長谷部 光泰  
教授 飯田 滋  
教授 西村 幹夫  
名誉教授 佐藤 公行（岡山大学）

## 論文内容の要旨

Peroxisomes in higher plant cells have been recognized to differentiate into at least three different classes, namely glyoxysomes, leaf peroxisomes and unspecialized peroxisomes. Glyoxysomes are present in cells of storage organs, such as cotyledons during post-germinative growth of oil seed plants, as well as in senescent organs. They contain enzymes for  $\beta$ -oxidation and the glyoxylate cycle to degrade fatty acids. In contrast, leaf peroxisomes are found widely in cells of photosynthetic organs. They play a role of glycolate metabolism in photorespiration pathway. Other organs, such as roots and stems, contain unspecialized peroxisomes whose function is still obscure. Those differentiated peroxisomes are known to convert into one another under certain conditions. For example, glyoxysomes in etiolated cotyledons are transformed directly into leaf peroxisomes during the greening of cotyledons. Recent progresses on the analyses of Arabidopsis mutants suggest that plant peroxisomes have more diverse functions than we know at present.

In chapter 1, to reveal genetic configuration of plant peroxisomes, she comprehensively surveyed genes related peroxisomal function and biogenesis in the entire Arabidopsis genome sequence. In this survey, she used amino acid sequences that are well known as targeting signals of peroxisomal matrix proteins, namely PTS1 and PTS2. She identified 256 gene candidates of PTS1- and PTS2-containing proteins. In addition to the 256 gene candidates, she put in another 30 genes of non-PTS-containing proteins predicted to relate peroxisomal function and biogenesis, such as peroxisomal membrane proteins. Of these, only 29 proteins have been reported to be functionally characterized as peroxisomal proteins in higher plants. Using the total 286 peroxisomal genes, she extensively investigated expression profiles in various organs of Arabidopsis to reveal diversity of plant peroxisomes. Statistical analyses of these expression profiles revealed that peroxisomal genes could be divided into five groups. One group showed ubiquitous expression in all organs examined, while the other four were classified as showing organ-specific expression in seedlings, cotyledons, roots and in both cotyledons and leaves. These data proposed more detailed description of differentiation of plant peroxisomes.

The aims of chapter 2 are to reveal gene expression profiles during functional transition of plant peroxisomes and to investigate candidate genes functioned at the process. She compared gene expression profiles of cotyledons illuminated for 2hr, 6hr, 12hr and 24hr in white light following 4 days growth in dark with cotyledons grown for 4 days in dark. During illumination, the genes of enzymes for  $\beta$ -oxidation and glyoxylate cycle were reduced. On the other hand, genes of enzymes for photorespiration were induced by light. Along with these genes, a lot of peroxisomal genes changed their expression levels during irradiation. In contrast, nine peroxisomal genes showed transitory expressed pattern during illumination. It was suggested that the genes functioned at the process of functional transition of peroxisomes.

In this study, she revealed the diversity of plant peroxisomes and declared gene expression profiles during the functional transition of peroxisomes. This study will serve as a foundation for revealing unidentified peroxisomal functions in plant cells.

## 論文の審査結果の要旨

植物のペルオキシソームは細胞の状態に応じて機能変換し、その機能に応じてグリオキシソーム、緑葉ペルオキシソームとよばれる2つの特殊化した機能状態が知られている。一方で多くの器官のペルオキシソームは、特殊化していないペルオキシソームとして区分されている。

申請者は、植物ペルオキシソームの機能の多様性を明らかにすることを目的として研究を行った。まずシロイヌナズナの全ゲノム配列情報から、ペルオキシソームへの輸送シグナルをもとに、286個のペルオキシソームの機能、形成に関わる遺伝子を選出した。これは、ペルオキシソームの遺伝学的構成を明らかにする最初の試みである。またこの結果、既知のペルオキシソーム遺伝子に比べて多数の機能未同定のペルオキシソーム遺伝子が見いだされた。このことは、多くの未同定のペルオキシソーム機能が存在することを示唆し、その機能を明らかにする基盤となるものである。次にこれらのペルオキシソーム遺伝子を網羅したマイクロアレイを作製し、シロイヌナズナの各器官におけるペルオキシソーム遺伝子の発現パターンを網羅的に解析した。その結果、ペルオキシソーム遺伝子は、対象とした7器官を通じて発現する遺伝子群と、器官特異的な発現を示す4つの遺伝子群に分類できることが明らかになった。このことから、ペルオキシソームの機能分化は転写レベルで制御されており、基本機能を果たす多くの遺伝子の発現に加えて、器官特異的な機能を果たす遺伝子の発現によって達成されているという、新たな機能分化機構を提出した。さらに器官特異的に発現する遺伝子群のうち、根と緑化子葉に特異的に強い発現を示す遺伝子群はそれぞれ今回新たに同定されたものである。以上の結果から、今まで機能的に3つに分類されてきた植物ペルオキシソームを、子葉ペルオキシソームと根ペルオキシソームを加えて5つに細分化できることを明らかにした。

さらにペルオキシソーム機能分化の変化した *ped1* 突然変異株と、野生株の光による機能変換過程のペルオキシソーム遺伝子発現パターンを比較し、機能変換過程で働く調節因子の候補として1つの遺伝子を見いだした。この遺伝子産物の予測されるアミノ酸配列と既知タンパク質との類似性から、機能変換過程での、リン酸化を通じたグリオキシソームタンパク質の特異的分解というモデルを提唱した。

これらの結果は、植物ペルオキシソームの多様性と機能変換機構を遺伝子レベルで網羅的に解析した最初の報告であり、ペルオキシソームの機能分化を解明したもので、学位論文として十分に価値あるものと判断された。この結果の一部は既に国際誌に掲載されている。

専門領域及び関連領域に関する口述試験として、(1)ペルオキシソーム遺伝子の網羅的な探索の妥当性、(2)用いた統計解析の妥当性、(3)2種類のペルオキシソーム輸送シグナルの使い分けなどについて質問した。申請者の返答は妥当なものであり、問題点もよく把握していると判断された。この結果、審査委員全員一致で鎌田知江が博士の学位授与に足る学識と能力を持つと判定した。

英語の能力に関しては、既に公表されている応分の論文から判断して博士として十分であると判定した。