

氏 名 鈴木 真 吾

学位（専攻分野） 博士(理学)

学 位 記 番 号 総研大甲第775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 The SphS-SphR two-component system is the exclusive sensor for the induction of gene expression in response to phosphate limitation in *Synechocystis* sp. PCC 6803; A study of genome-wide expression of genes by DNA microarray analysis

論文審査委員	主 査 教授	飯田 滋
	教授	西村 幹夫
	教授	長谷部 光泰

論文内容の要旨

Phosphate is an essential nutrient and it is required, for example, for the biosynthesis of nucleotides, DNA and RNA, and for the functional regulation of proteins by phosphorylation. However, phosphate is one of the least available nutrients in the environment. Therefore, regulatory mechanisms have developed for the acquisition, storage, and metabolism of phosphate. One such regulatory mechanisms involves the induction of the expression of genes whose products maintain an appropriate range of phosphate concentrations within each cell under phosphate-limiting conditions. The primary event under such conditions is the perception of phosphate-limiting conditions and transduction of the signal. However, the molecular mechanism by which organisms perceive the phosphate-limitation signal is still unclear.

They identified previously a two-component system, which consists of histidine kinase SphS and its cognate response regulator SphR, that regulates the expression of the *phoA* gene (*sl10654*) for alkaline phosphatase under phosphate-limiting conditions in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. In the present study, he used DNA microarrays to investigate the role of SphS and SphR in the regulation of the genome-wide expression of genes in response to phosphate limitation. In wild-type cells, phosphate limitation induced the expression of 27 genes with induction factors greater than 2.5. Nineteen of these genes were included in five clusters of genes, namely, the *pst1* and *pst2* clusters that encode phosphate transporters; the *phoA* and *nucH* genes; genes for signal transducers; the *sl10721* and *sl10722* genes that encode proteins of unknown function. Phosphate limitation repressed the expression of 18 genes with induction factors below 0.4. These genes included the *urtA* gene and genes for ribosome proteins, in two clusters. Inactivation of either of SphS or SphR completely eliminated the phosphate limitation-inducible expression of genes and the phosphate limitation-repressible expression of the *urtA* gene. In addition, he found that SphR bound to the upstream flanking regions of several phosphate limitation-inducible genes at repetitive PyTTAAPyPy(T/A)-like sequences. These results suggest that the SphS-SphR two-component system in *Synechocystis* sp. PCC 6803 is the dominant sensory system that controls gene expression in response to phosphate limitation.

論文の審査結果の要旨

リン酸は生体内において、核酸、リン脂質などの合成および様々な生化学反応に必須であり、生物にとって最も重要な栄養素の一つである。しかしながら環境中の有効リン酸濃度は非常に低く、生物は常にリン酸欠乏状態におかれていると考えられる。したがってリン酸欠乏状態への適応機構を発達させる事は、生物にとって非常に重要な生存戦略であると言える。申請者はラン藻 *Synechocystis* sp. PCC 6803 を材料として、リン酸欠乏条件下での応答を網羅的に解析し、さらに、その情報伝達に関与する二成分制御系の機能解析を行った。論文は以下の5章から構成されている。

第1章:研究背景

生物にとってのリンの重要性および環境中でのリンの動態を記載した後、酵母、植物、細菌類において明らかにされているリン酸欠乏応答とその情報伝達機構について詳細に記述した上で、本研究の位置付けおよび目的を述べている。

第2章:実験操作

本実験で用いられた研究手法について詳細に記述している。

第3章:ラン藻 *Synechocystis* sp. PCC 6803 のリン酸欠乏応答

DNA microarray 法を用いて、リン酸欠乏誘導性遺伝子として27遺伝子を、また抑制性遺伝子として18遺伝子をそれぞれ同定した。さらにそれらの遺伝子の発現応答には時間差があることを解明し、リン酸欠乏への適応はリン酸取込みの活性化から始まることを示した。

第4章:SphS-SphR からなる二成分制御系の機能解析

SphS-SphR(*Synechocystis* phosphate regulon, sensory kinase および response regulator)からなる二成分制御系が唯一のリン酸欠乏誘導性遺伝子の制御系であることを明らかにした。さらに、それらの遺伝子の上流域に存在し、SphR が認識するシス配列として、PyTTAAPyPy(T/A)の繰り返し配列を同定した。

第5章:総合討論

研究成果に関する考察、さらに環境浄化への応用の可能性について詳細な記述を行っている。

本研究は、ラン藻 *Synechocystis* sp. PCC 6803 のリン酸欠乏応答性遺伝子を網羅的に解析し、さらに、リン酸欠乏に関する情報伝達機構について詳細な解析を行った重要な研究である。したがって、学位論文として十分な内容を有すると判断し、合格と判定した。

審査委員会は、専門領域および関連領域に関する口述試験を行った。その結果、審査委員は一致して鈴木真吾の研究内容、専門分野に関する知識と理解が学位取得の条件を十分に満たすものと判定した。また、本論文は英文にて記述されており、さらに、その内容の一部が国際誌に受理されていることなどから、申請者の語学能力は学位取得に十分であると判断された。以上の結果から、本論文は学位取得に相応しいと判断する。