

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	単細胞紅藻における新規ゲノム改変技術の開発とそれを用いた窒素同化系調節タンパク質CmACRの機能解析
Title(English)	
著者(和文)	竹村時空
Author(English)	Tokiaki Takemura
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第11396号, 授与年月日:2020年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:田中 寛,太田 啓之,下嶋 美恵,若林 憲一,今村 壮輔
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第11396号, Conferred date:2020/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	要約
Type(English)	Outline

単細胞紅藻における新規ゲノム改変技術の開発とそれを用いた窒素同化系調節

タンパク質 CmACR の機能解析

生命理工学院生命理工学系生命理工学コース

竹村時空

要約

本論文は「単細胞紅藻における新規ゲノム改変技術の開発とそれを用いた窒素同化系調節タンパク質 CmACR の機能解析」と題し、以下の3章で構成されている。

第1章の「序論」において、本研究の意義や目的が述べられている。窒素は植物や藻類にとって、核酸、タンパク質をはじめとする、様々な生体内物質の構成要素として非常に重要である一方で、土壌中や水圏に存在する量は決して多くない。さらに、窒素源は様々な環境要因によりその量変動するため、植物や藻類は細胞内の窒素量や窒素の取り込み量や同化量などを厳密に制御していると考えられる。これまでの先行研究により、植物における窒素の同化経路は明らかにされつつあるが、窒素同化系を制御するメカニズムは極めて複雑であり、いまだに十分には理解されていない。これを克服するためには、単純な光合成真核生物をモデル系にすることで、制御機構の基本的な部分から明らかにすることが必要であると考えられた。そこで、本研究では原始的な単細胞紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* (シゾン) をモデル系として光合成真核生物における窒素同化系の基本的な部分を明らかにすることを目的として研究を行った。

第2章の「単細胞紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* における各ゲノム遺伝子の多重改変技術の確立」では、本研究を進める上で必要となったシゾンにおける新しい形質転換実験手法の開発に関する研究結果が述べられている。シゾンを用いた研究が広く展開されているが、その理由の一つとして、外来 DNA を用いた遺伝子の一過性発現系や、相同組換えによる遺伝子ターゲティングなどを用いた、分子遺伝学的手法による解析が可能であることがあげられる。しかしながら、シゾンの培養は高温酸性条件下であるため、形質転換の際に選択圧をもたらす抗生物質などの多くが失活してしまい、形質転換体を選抜する際の遺伝子選択マーカーの種類が少なく、複数の遺伝子座に変異を入れる実験系が成立しないという問題点が存在した。そこでこの章における研究では、シゾンにお

いてすでに報告されていた選択マーカー遺伝子 *URA5.3* の再利用系の開発及び形質転換用 DNA 作製のための基盤となるプラスミド DNA の構築を行った。

第 3 章の「単細胞紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* における窒素同化系制御タンパク質 CmACR の機能解析」では、第 2 章で開発した新しい形質転換技術を用いて作出した変異株などの解析を通じて機能未知なタンパク質 CmACR の機能解析を行った。CmACR はそれ自身が窒素同化反応を担う酵素ではないと考えられたものの、グルタミン結合ドメインと予想されるタンパク質領域を持つことや、他生物における CmACR のホモログと考えられるタンパク質が窒素同化系の制御因子として重要な役割を果たすことなどから、CmACR が窒素同化の制御系に関わることが予想された。研究の結果、グルタミン合成酵素 (GS)、グルタミン酸合成酵素 (GOGAT) から構成される GS/GOGAT サイクルと呼ばれる、無機態窒素であるアンモニウムイオンを有機態窒素であるグルタミンへと同化する反応を担う重要な機構に CmACR が密接に関わっていることが示された。シゾンにおいて、GS は細胞質局在、GOGAT は葉緑体局在であり、両者は局在が異なるが、CmACR がこれらを統合的に調節するはたらきがあることが考えられた。

以上、本論文では単細胞紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* において新たな遺伝子組み換えの手法を報告するとともに、これを用いて作出された変異体などの解析により、光合成真核生物における窒素同化の制御機構についての研究結果が述べられている。