

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 櫻井 哲也

ゲノム研究において、転写領域などの予測を行うゲノム注釈の作成は、その遺伝情報全体を理解するためのゲノム解析の基本であり、高品質であることが要求される。また、配列や注釈といったゲノム情報が蓄積されることで、その比較解析による各生物種の遺伝子概観の把握や DNA 多型探索が可能になる。そこで本研究では、完全長 cDNA を活用したモデル植物シロイヌナズナ、モデル樹木ポプラとデンプン作物キャッサバのゲノム注釈改善による植物のゲノム研究基盤整備を推進し、各植物の遺伝子機能概観の把握および系統間 DNA 多型の同定、DNA 多型と遺伝子機能との関係性についての解析を行った。

本研究の背景と目的を述べた第 1 章に続き、第 2 章では、植物の完全長 cDNA 解析とその情報基盤整備を行った。

シロイヌナズナのゲノム注釈情報の改善とデータベース RARGE の構築においては、シロイヌナズナ完全長 cDNA 由来の約 30 万配列をゲノム配列へ整列させることにより、503 個の新規遺伝子を同定し、4,119 個の既知遺伝子についてのゲノム注釈情報を改善した。また、遺伝子機能解析に有用な *Ds* トランスポゾンタグ挿入変異体 17,671 系統について、*Ds* トランスポゾンタグ挿入位置を同定し、変異体が関与する遺伝子についての注釈付けを行った。さらに、解析で得られた情報を体系的に編纂し、データベース RARGE としてインターネット上へ公開した。

ポプラ完全長 cDNA の収集とその配列解析においては、様々な部位、ストレス処理を施した植物体を出発材料とし、ビオチン化キャップトラッパー法を用いて完全長 cDNA ライブラリを作製した。作製した cDNA ライブラリから単離した各 cDNA の両末端配列を決定し、47,137 個の cDNA に由来する 89,572 配列(5'末端読み配列:46,000、3'末端読み配列:43,572)を得た。獲得した cDNA の完全長率は 86%であり、通常の cDNA 収集よりも高品質であることを客観的に示した。収集した cDNA 配列を概要ゲノム配列へ整列させることにより、944 個の新規遺伝子を同定し、さらに 1,087 個の予測遺伝子についてゲノム注釈情報を改善した。

キャッサバでも同様の方法で完全長 cDNA ライブラリを作製し、cDNA ライブラリから cDNA を単離した。各 cDNA の両末端配列を決定し、19,450 個の cDNA に由来する 35,400 配列(5'末端読み配列:18,790、3'末端読み配列:16,610)を得た。獲得した cDNA の完全長率は 84%であり、キャッサバにおいても通常の cDNA 収集よりも高品質であった。収集した cDNA 配列を概要ゲノム配列へ整列させることにより、974 個の新規遺伝子を同定し、さら

に 751 個の予測遺伝子についてゲノム注釈情報を改善した。

上述の解析により改善したポプラ、キャッサバのゲノム注釈情報を用いて、シロイヌナズナとの比較解析を行い、各植物の遺伝子機能概観を得た。

第 3 章では、ゲノム情報を活用した有用作物キャッサバの DNA 多型の探索と DNA 多型と遺伝子機能との関係性について解析を行った。第 2 章におけるキャッサバ完全長 cDNA 収集により配列情報が充実し、キャッサバ系統間における効果的な比較ゲノム解析が可能になった。17 のキャッサバ系統間における DNA 多型探索を行った結果、10,546 ヶ所の一塩基多型(SNP)と 674 ヶ所の挿入・欠損を同定し、さらに各 DNA 多型周辺のゲノム DNA 増幅用の PCR プライマーペア配列を設計することで分子マーカー開発の基盤を構築した。非同義-同義塩基置換とタンパク質ドメインとの関係性、翻訳タンパク質長を変化させる SNP と遺伝子機能との関係性を解析し、植物の病害応答性および環境応答性遺伝子の多様化への SNP の関与を示唆した。これらの解析結果を編纂し、データベース Cassava Online Archive としてインターネット上に公開した。

以上、本研究は、モデル植物シロイヌナズナのゲノム注釈を改善し、その解析手法を活用して完全長 cDNA 収集による樹木ポプラとデンプン作物キャッサバのゲノム注釈改善を行い、さらに、キャッサバの系統間 DNA 多型の同定と分子マーカー開発、および SNP と遺伝子機能との関係性についての解析を行ったものであり、学術的・応用的に貢献するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。