

BULLETEN
OF THE
TOCHIGI PREFECTURAL
AGRICULTURAL EXPERIMENT STATION

栃木県農業試験場 研究報告

第 56 号

2006年 2月

Tochigi Prefectural Agricultural
Experiment Station.

Utsunomiya, Tochigi, Japan

栃木県農業試験場

(宇都宮市瓦谷町)

ゲノム生物学的手法による植物のリン酸応答機構に関する研究

天谷正行

目 次

序 論	1
第 1 章 網羅的遺伝子発現解析のための方法の開発	
第 1 節 ゲノムDNAアレイ法の開発	
1-1-1 序章	5
1-1-2 材料および方法	5
1-1-3 結果	9
1-1-4 考察	12
1-1-5 図および表	15
第 2 節 モデル植物ゲノム情報の他作物での遺伝子発現解析への利用	
1-2-1 序章	35
1-2-2 材料および方法	35
1-2-3 結果	37
1-2-4 考察	38
1-2-5 図および表	40
第 2 章 リン酸応答の網羅的遺伝子発現解析	
第 1 節 シロイヌナズナ系統のリン酸応答	
2-1-1 序章	45
2-1-2 材料および方法	45
2-1-3 結果	46
2-1-4 考察	46
2-1-5 図および表	48
第 2 節 リン酸飢餓における網羅的遺伝子発現解析	
2-2-1 序章	52
2-2-2 材料および方法	53
2-2-3 結果	55
2-2-4 考察	61
2-2-5 図および表	64
要 約	94
英文要約	96
謝 辞	98
引用文献	99
関係論文	109
略 語	110

序 論

地球規模でのリン資源の枯渇が、農業生産、ひいては食糧生産に深刻な影響を与えるという予測がある。農業生産に必要な不可欠な養分である窒素（硝酸態やアンモニウム態）は化学合成や窒素固定菌により供給され、カリウムは火山灰土壌や地底塩（湖）から潤沢にもたらされる。一方で、リン（リン酸）は海鳥の糞（グアノ）が堆積した天然資源であるリン鉱石を原料としており、利用可能な量に限りがある。「緑の革命」に始まる近代的農業生産は、過去 40 年間に世界規模で穀物生産を 2 倍に増大することに成功した。しかし、同時にリン肥料の消費量は 1960 年から現在までに約 5 倍に増えており（Vance 2001）、我が国も現在中国やアメリカから年間約 90 万 t を輸入している（財務省貿易統計）。世界の人口は 2070 年に 100 億人を突破すると予測され、今後 50 年間に要求される食糧は現在の生産量の 2 倍に達する（Tilman ら 2002）。限られた資源を有効に利用して土壌及び海洋環境への負荷を軽減し、持続的な農業生産を行うことは人類に課せられた最大の課題のひとつである（Hirsch と Sussman 1999）。植物のリン酸代謝機構を解明し、リン酸吸収能力の改良や低リン酸環境（低遊離リン酸環境）へ適応した農作物を作り出す研究は、人類に課せられた課題の解決に貢献するだろう。

植物が生育する自然環境の多くは常に低リン酸条件にあるため、植物は土壌中の低濃度のリン酸を効率的に獲得し、状況に応じてリン酸分子を有効利用する手段を備えている（Abel ら 2002）。土壌中の遊離型リン酸濃度は通常数 μM 程度（Bielecki 1973）と少ないが、液胞内では土壌中での遊離型リン酸濃度に比べて数千倍もの能動的な濃縮が行われている（Shachtman 1998）。土壌中のリン酸を根から吸収するための機構として、リン

酸トランスポーターの機能が研究されている。シロイヌナズナからは酵母の高親和性リン酸トランスポーター *PHO84*（Bun-Y ら 1991）と相同な複数のリン酸トランスポーター遺伝子が単離されており（Mitsukawa ら 1997, Smith ら 1997）、高親和性リン酸トランスポーター *Phl1:1* はタバコ培養細胞 BY-2 で過剰発現させた実験により、リン酸吸収量が増加することが確かめられた（Mitsukawa ら 1997）。最近の研究によれば、リン酸親和性の異なる 2 つのリン酸トランスポーター遺伝子 *AtPT1*（低親和性）、*AtPT2*（高親和性）はそれぞれ 125 μM 及び 50 μM のリン酸濃度で遺伝子発現が誘導され、*AtPT1* プロモーターの発現にはオーキシンやサイトカイニンが関与しているという報告がある（Mukatira ら 2001, Karthikeyan ら 2002）。低リン酸に応答するトランスポーターを機能させるだけでなく、根毛量を増やすことにより、リン酸との接触面積を高めて吸収効率を高めていることも知られている（Schmidt と Schikora 2001）。また、土壌中のリン酸の大半は、不溶性のアルミニウムリン酸塩やフィチンなどとして存在しており、それらから積極的にリン酸を吸収するために、キレート力の強い有機酸（クエン酸等）や有機物からリン酸を遊離させる酸性フォスファターゼを根圏に分泌している（Hirsch ら 1999, Baldwin ら 2001, Richardson ら 2001）。実際にこの機構を利用して、遺伝子組み換え技術により有機酸放出やフィターゼの分泌を高め、リン酸の吸収量を増加させた例が報告されている（Hirsch と Sussman 1999, Koyama ら 2000, Richardson ら 2001, Chiou ら 2001）。自然界では常にリン酸の欠乏、飢餓という危険にさらされてきたため、植物は巧妙なリン酸吸収の機構を進化の過程で獲得してきたと考えられる。しかし、根圏のリン酸濃度を感知するセンサー（Goldstein ら 1988）や、トランスポーターに付随する制御因子などに関しては不明な点が多い

(Abel ら 2002)。

植物体内のリン酸不足を補う適応も知られている。解糖系では通常 ATP や遊離型リン酸のエネルギーを利用した酵素反応が行われているが、リン酸が不足すると別の酵素反応が活性化し、バイパス経路が働く(Theodorou 1993)。分泌型 RNA 分解酵素の高発現も知られており、核酸を分解して不足するリン酸基質の供給を行うことが示唆されている(Nrünberger 1990)。葉緑体においても、リン酸が不足するとチラコイド膜成分のリン脂質が減少し、含硫脂質が増加することが知られている(Härtel ら 1998)。しかし、体内リン酸濃度の恒常性維持機構を誘導する分子的メカニズムは不明である。

植物体内におけるリン酸輸送機構を解明するために、リン酸の転流に関する 2 つの突然変異体が研究されている。Poirier ら(1991)は、シロイヌナズナにおいて地上部のリン酸量が減少した突然変異である *pho1* を選抜した。この突然変異では導管へのリン酸運搬が阻害され、液胞中に濃縮されたリンが異常に蓄積する。この結果、地上部組織では常にリン酸欠乏状態が起きていることが、遺伝子発現解析や葉中の脂質組成分析の結果から明らかとなっている(Essigmann ら 1998)。Hamburger ら(2002)は *PHO1* 遺伝子の単離に成功し、C 末端側に 6 個の膜貫通ドメインを有するイオントランスポーターを同定した。このトランスポーターは植物でこれまでに発見されている主要なトランスポーターと構造的に異なっており、哺乳類レトロウィルスレセプター *Rcm1* や、酵母の mating pheromone レセプター *Syg1* との相同性を有していた。*PHO1* と相同性を示す遺伝子がシロイヌナズナゲノム中に 10 個予測されているが、機能はまだ不明である。もう一つのリン酸転流に関する突然変異 *pho2* は、*pho1* とは異なり葉組織にリン酸が高濃度に蓄積する(Delhaize と Randall 1995)。*pho2* では地上部の

師管に異常が起きており、根への再転流が阻害されていると予測されているが、遺伝子の同定には至っておらず機能の解明が待たれる。他に、リン酸飢餓ストレスへの応答性や、核酸生合成に関する突然変異が見つかった。Rubio ら(2001)は、リン酸飢餓時にアントシアニン蓄積の起こらない突然変異 *phr1*(phosphate starvation response 1) を選抜した。この遺伝子中には MYB-coiled-coil(cc)ドメインが存在しており、遺伝子上流域に存在する 8 塩基の配列が、*AtPTI* などリン酸吸収と関連のある 11 個の遺伝子に共通に保存されていることを明らかにした。この他にも、*PHR1* と同様に MYB-cc-ドメイン構造を持つ核酸生合成異常突然変異 *psr1*(phosphorous starvation response 1) が知られている(Chen ら 2000)。

これらのリン酸欠乏に応答性を示す遺伝子の機能や、リン酸代謝機構に関する突然変異の原因を研究することは、リン酸利用機構の解明につながると考えられるが、包括的な理解を得るためにはゲノムレベルでの解析が有効であろう。

DNA アレイ法は、ゲノム情報を利用して一度に大量の遺伝子の発現変化を調べるために開発され、ヒトからバクテリアまで多くの生物種のポストゲノム解析に利用されている。この技術は酵母を研究していた Schena ら(1995)が、小規模な cDNA マイクロアレイを試作したことに始まった。アレイ法は、数千あるいは万の単位の遺伝子に対してノーザン解析を行うことと類似した技術である。ストレス等の外的要因に応答した遺伝子発現量を数値化し、発現変化パターンのクラスタリングによって、応答性の類似した遺伝子の選別が可能である(Somerville.C と Somerville. S 1998)。

現在の DNA アレイには、使用する支持体やスポットする DNA の種類(形状)およびスポット法により多様な種類がある。ナイロンメンブランを使用した密度の低いアレイはマクロアレイと呼ばれ

ている。マイクロアレイは支持体や作製費用が低コストで、脱プローブにより数回の使用ができることから経済的であり、アイソトープを使用することで発現量の検出感度に優れる(Baldwin ら 1999)。スライドガラス上に DNA 結合修飾剤をコーティングし、高密度に作製したものをマイクロアレイと呼んでいる。マイクロアレイと比較するとコストは高いが、一度に供試可能な遺伝子数が多く、検出には簡易な蛍光標識法を使用するため、現在では主流な手法となっている(Schaffer ら 2000)。

アレイに用いる DNA は、EST クローンを利用した cDNA が一般的である。しかし、発現量の少ない遺伝子や、特殊な組織あるいは状況下でのみ働く遺伝子を含めて、ゲノム中の全遺伝子を EST 化することは困難である。シロイヌナズナゲノムの持つ全遺伝子数はゲノム解読直後には 25,498 個 (AGI:The *Arabidopsis* Genome Initiative 2000) と予測されたが、2003 年現在では 27,384 個に増加した(Wortman ら 2003)。本論文では、全遺伝子数として 25,498 個を用いている。かずさ DNA 研究所では、12,028 個の非重複 EST を決定している (Asamizu ら 1999)。最近になり、ゲノム解読が終了したイネやシロイヌナズナでは、遺伝子注釈情報に基づいた合成オリゴ DNA を使用したマイクロアレイが作製されている(Hughes ら 2001)。合成部位には 3' 非転写領域(UTR)が使用されているため、類似配列を持つ遺伝子ファミリー間の交叉ハイブリダイゼーションの頻度を軽減できる。

酵母や原核生物では比較的正確な遺伝子構造予測が可能のため、ゲノム DNA 配列を利用したアレイが使用されている(DeRisi ら 1997, Lashkari ら 1997)。これに対し高等生物では、共通なスプライシングシグナルが見つからないことや、長いイントロン構造を有する遺伝子の存在が構造予測を困難にしていることから、EST に依存した cDNA アレイが一般的に利用されている。最近では選択

的スプライシング機構(Zhou ら 2003)や、snoRNA、microRNA(Johnes. L 2002, Llave ら 2002, Qu ら 2001)など新たな遺伝子構造が発見されており、高等植物においてもゲノム上の全遺伝子情報を利用したゲノム DNA アレイによる遺伝子発現解析手法の開発が必要である。モデル植物シロイヌナズナでは、解読されたゲノム塩基配列情報や、遺伝子構造予測情報の公開が行われ、インターネット上での利用が可能である。

モデル植物であるシロイヌナズナでは、ゲノム研究を補助する様々なリソースが整備されている。シロイヌナズナの遺伝子は、染色体毎に通し番号で管理されており(以下 AGI コード)、The *Arabidopsis* Information Resource (以下 TAIR:[http://www. Arabidopsis.org/](http://www.Arabidopsis.org/))のデータベース AraCyc では、主要な代謝に関与する遺伝子や、複数の研究から同定された同一遺伝子に関する情報の統一化データベース(Gene Ontology: GO)が公開されている。この他にも National Center for Biotechnology Information (以下 NCBI)のタンパク質ドメイン検索やタンパク質の細胞内局在性を予測するデータベース(TargetP)がインターネット上で使用可能である。最近では完全長 cDNA の単離が進められており([http:// www. gsc. riken.go.jp/Plant/index. html](http://www.gsc.riken.go.jp/Plant/index.html))、従来の EST クローン情報と併せて、遺伝子構造予測精度の向上に寄与している。T-DNA やトランスポゾンを利用した遺伝子破壊系統も *Arabidopsis* Biological Resource Center (以下 ABRC:[http:// www. biosci.ohio-state.Edu/ ~plantbio /Facilities /abrc /abrhome.htm](http://www.biosci.ohio-state.edu/~plantbio/Facilities/abrc/abrhome.htm))等から豊富に提供されており、遺伝子の機能解析に利用されている。モデル植物を利用した研究は作物への応用に時間がかかる欠点があるが、豊富なポストゲノム解析ツールを有効に利用することで研究を加速することが可能である。

本研究では、植物のリン酸利用機構に関する包括的な解明を目的とし、リン酸欠乏が遺伝子発現レベルに与える影響をゲノムワイドに解析した。材料には、豊富なゲノム情報が利用可能なシロイヌナズナを用い、ゲノムワイドな解析にはゲノム DNA と cDNA アレイを使用した。リン酸欠乏に応答性を示す遺伝子を同定することは、植物側のリン酸獲得機構、あるいはリン酸分子の有効利用に関する戦略性を解明する手がかりにつながるものと考えられる。既知の知見に基づき、代謝経路やリン酸吸収の増大に関連した遺伝子発現への影響に加え、ATP 合成が行われる光合成反応への影響を調べた。モデル植物の利用は農作物への応用に時間がかかるが、豊富な完全長 cDNA クローンや遺伝子破壊系統の利用が可能ことから、リン酸欠乏応答性遺伝子の機能解析へとつながる利点があると考えている。この研究成果が食糧増産技術の開発や、環境負荷軽減技術の開発を行うための手がかりにつながるものと期待する。

第 1 章では、網羅的遺伝子発現解析のための新たな方法の開発を行った。第 1 節では、EST の得られていない遺伝子や、現在の遺伝子注釈では予測されていない遺伝子を対象とした発現解析が可能な、ゲノム DNA アレイ法の開発を行った。シロイヌナズナのゲノム塩基配列解読 (AGI 2000) の過程で得られたゲノム小断片クローンの中から、5 番染色体長腕部のテロメア側から約 6.8Mb にわたる領域をつないだ平均長約 2.9 kb のクローンを利用した。ゲノム小断片クローンをナイロンメンブランにスポットしたマクロアレイを作製し、詳細な遺伝子発現解析を行った。この結果、EST の得られていない遺伝子の発現を同定し、遺伝子注釈情報の無い領域から発現が起きていることを見いだした。第 2 節では、多様な作物種において、モデル植物のゲノム情報を有効に活用する手法を開発した。シロイヌナズナ cDNA アレイを作製し、他種作

物における遺伝子発現解析を行うため、ヘテロブローブハイブリダイゼーション (heterogenous hybridization) の条件を検討した。さらにシロイヌナズナの近縁種を利用して、生殖器官特異的遺伝子の検索を行った。得られた結果から、近縁種植物の遺伝子を利用して、シロイヌナズナ中の同祖遺伝子の発現解析が可能なことを明らかにした。

第 2 章では、植物におけるリン酸応答の網羅的遺伝子発現解析を行った。第 1 節では、シロイヌナズのアクセッションと代表的アクセッションのコロンビア (Col-0) を用いて、低リン酸条件への応答性を比較した。Sendai Arabidopsis Seed Stock Center (SASSC) のアクセッション 247 種を用い、異なるリン酸濃度条件下における生育を比較した。コロンビアの低リン酸応答性が標準的であることに加え、低リン酸条件に異なる適応性を示したアクセッションを見いだした。第 2 節では、12,028 個のシロイヌナズナ EST クローンを利用した cDNA マクロアレイと、21,500 個の遺伝子合成オリゴマーをスポットしたマイクロアレイを使用し、リン酸飢餓時の植物における遺伝子発現解析をゲノムワイドに行った。リン酸飢餓により誘導される未知遺伝子の同定と、エネルギー代謝および光合成関連遺伝子の発現変化をゲノムレベルで明らかにした。

本研究では、ゲノム生物学的手法により植物の遺伝子発現解析を行う方法を開発し、リン酸飢餓に応答する植物の遺伝子発現変化をゲノムワイドに解明した。この研究により、リン酸不足を補うためのリン酸吸収の増大や、体内でのリン酸消費の抑制に関連した遺伝子発現変化に加え、新規なリン酸飢餓応答遺伝子を同定した。この成果が植物のリン酸代謝機構の解明につながり、食糧問題の解決や環境維持技術の開発に貢献するだろう。

第 1 章 網羅的遺伝子発現解析のための 方法の開発

第 1 節 ゲノム DNA アレイ法の開発

1-1-1 序 章

下等なバクテリア類から高等なヒトに至るまで 120 を超える生物種においてゲノムシーケンス解読が終了している。NCBI(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)のゲノム配列データベースで相同性検索が可能な生物種は 331 種である(2003 年 12 月現在)。高等植物に関しては、双子葉類の代表としてシロイヌナズナ(AGI 2000)、単子葉類の代表としてイネのゲノム解読が終了した(Sasaki ら 2003)。ゲノム解析と並行して EST 情報データベースも増大しており、モデル植物をはじめ、トウモロコシ、ダイズ、大麦、トマト等の主要作物の遺伝子部分配列が公開されている。

DNA アレイ法は、ゲノム情報に基づいて遺伝子発現解析を大量に行う目的で開発され、広範な生物種の研究に利用されている(DeRisi ら 1997, Desprez ら 1998, Shena ら 1995)。高密度な DNA アレイを利用して、異なる細胞種や組織およびストレス応答等の遺伝子発現変化の大量解析が可能である(Lockhart と Winzer 2000)。正確な遺伝子構造予測が可能な酵母や原生生物では、ゲノム DNA 配列を利用したアレイが研究に利用されている(DeRisi ら 1997, Lashkari ら 1997, Selinger ら 2000)。これに対して、長いイントロンを持つ高等生物種では正確な遺伝子構造予測が困難なため、EST クローンを使用した cDNA アレイが利用されてきた(Schaffer ら 2000)。しかし低発現遺伝子や特殊状況下で発現する遺伝子の転写産物は、EST データベースに存在しないことがしばしば起きている。

既にゲノム塩基配列の解読が終了しているシロイヌナズナとイネでは、遺伝子注釈情報に基づいた非翻訳領域を使用して合成オリゴアレイが開発された(Hughes ら 2001)。遺伝子ファミリー間の交叉ハイブリダイゼーションを防ぎ、再現性も高く、大規模な遺伝子発現解析が可能である。しかし、遺伝子発現の調節に関与すると考えられる microRNA, snoRNA(Johnes.L 2002, Llave ら 2002, Brown ら 2003)や、選択的スプライシングを行う遺伝子(Zhou ら 2003)への適応は困難である。

本研究では、cDNA アレイあるいは合成 DNA アレイでは得られない遺伝子発現情報の解析を目的とし、シロイヌナズナゲノム配列を利用した DNA アレイを作製し(以下、ゲノム DNA アレイ)、遺伝子発現解析技術の開発を行った。ゲノム DNA アレイには、シロイヌナズナ 5 番染色体のテロメア側から約 6.8Mb にわたる領域を連続してカバーする平均長 2.9Kb のゲノム小断片クローン 2541 個を利用した。本解析手法の条件検討を行うために、この領域をカバーしている 10 個の親クローン(P1 および TAC クローン)による小ゲノム DNA アレイを作製し(計 819Kb)、次に 6.8Mb のゲノム領域を使用したゲノム DNA アレイを作製した。ストレスにตอบสนองして転写量の変化が起きたゲノム小断片について遺伝子発現領域の特定を行い、EST の得られていない遺伝子や、遺伝子構造が予測されていない領域においても転写を見いだすことができた。

1-1-2 材料および方法

1) 植物サンプルの調製

(1) 低温処理

シロイヌナズナのアクセッションであるコロネビア(Col-0)種子を 70%エタノールで 30 秒間表面殺菌し、5%の有効塩素を含む次亜塩素酸ナトリウム水溶液中で 20 分間の滅菌処理を行い、滅菌水を 5

回交換して洗浄した。B5培地(Gamborgら 1968)の基本培地(Sigma, St. Louis, MO, USA)にショ糖2%、寒天0.8% (Difco Sparks, MD, USA)を加え、pH5.7に調製したものをオートクレーブ(121°C、15分)により滅菌し、 γ 線滅菌処理済み角型2号シャーレ(Eiken Tokyo, Japan)に40 ml分注したものに播種した。栽培の条件は、日長条件は16時間/8時間(明/暗)、光条件は40 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 、温度は明20°C/暗25°Cで行った。3週間管理した植物体に対し、暗黒条件下で4°C、8時間の低温処理を行った。対照として22°C処理も行った。葉身を採取し、液体窒素で凍結した後-80°Cで保存した。無処理区を設けコントロールとした。

(2) リン酸欠乏処理

コロンビアを、MGRL 培地 (Fujiwara ら 1992) を用いて Hirai ら (1994) の方法に従い水耕栽培した。42 日間栽培を行った後、リン酸成分 Na_3P_0_4 (1.75mM)を除いた培地に移植し、14 日間のリン酸欠乏処理を行った。葉身を採取し、液体窒素で凍結した後-80°Cで保存した。また、無処理区を設けコントロールとした。

2) ゲノム DNA アレイの作製

(1) ゲノム小断片クローンの調製

シロイヌナズナ 5 番染色体の長腕部をカバーする 121 個の P1 及び TAC クローンを超音波処理により断片化し、電気泳動により約 2.5 kb 長の画分を集め平滑末端処理を行った後、M13 mp18 ベクターの *Hinc*II サイトに連結した。各 P1、TAC クローンについて 400 個程度の末端シーケンスを行い (Sato ら 1997)、相同性検索により最短距離で連結するクローンを選抜し、ゲノム DNA アレイ用のゲノム小断片クローンとした (表 1)。条件検討に使用する小ゲノムアレイには 9 個の P1 クローンと 1 個の TAC クローンを選び (MXK3, MDC12, MNC17,

MCK7, MDA7 MRB17, MNC6, MSG15, MWD22, K1F13)、ギャップとなっている箇所について可能な限り PCR により増幅を行ったが、若干のギャップが残った (表 1 中の青クローンはギャップ箇所、オレンジクローンはサブアレイに使用したクローン)。

(2) アレイスポット用 DNA の調製

選択したゲノム小断片クローンのインサート部位の増幅は、2 μl のファージ培養液を 98 μl の PCR 反応溶液 (Takara Otsu JAPAN) に加え、プライマー fw (5'-GGGTTTCCAGTCACGAC-3') と rv (5'-TTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTG-3') を用いて (98 °C 10 秒、68 °C 6 分) $\times 30$ サイクル、伸長反応 (72 °C 10 分) の条件で PCR 増幅を行った。得られた増幅産物はイソプロパノールによる沈殿を行い、0.008 %の BPB を含む 10 μl の Tris-EDTA buffer (pH 7.5) に溶解した。DNA 溶液 2 μl を 1.5 %アガロースゲル電気泳動し、臭化エチジウム (0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$) により染色後、イメージスキャナー (Fluor Imager) 及び解析用ソフト Image Quant (Molecular Dynamics, CA, USA) を用いて λ /HindIII サイズマーカーと比較し、濃度を定量した。DNA 濃度は 100~200 ng/ μl の範囲であった。

(3) ゲノム DNA アレイの作製

アレイフィルターの作製条件は Sasaki ら (2000) の方法に従い、12 $\times$ 8cm のナイロンメンブレン (A type 孔径 0.2 μm : Pall Biodyne, EAST Hills, NY, USA) を用い、2 反復でスポットを行った。スポットには 96 本ピンを用い、スポット機器 Biomek2000 (Beckman Fullerton, CA, USA) で行った。ハイブリダイゼーションのバックグラウンドを測定するため、ネガティブコントロールとして λ ファージのゲノム DNA を 10 ng/ μl の濃度に調製したものを同一フィルター上に 96 スポットした。有意なハイブリグシグナルの判定には Fisher の LSD 法

(Least Significant Difference)を用い、λファージへのハイブリシグナルとゲノム小断片へのハイブリシグナルを比較した。実験は3回の反復を行った。シグナル検出感度の検討のため、ヒト oestrogen-related receptor γ 遺伝子 (Gen Bank accession No.AF058291: KIAA0832: <http://www.Kazusa.or.jp/huge>)を上述の条件にて PCR 増幅し、100 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ に濃度を調製して同一アレイ中に24個をスポットした。

3) プローブ調製およびハイブリダイゼーション条件

(1) 標識プローブの調製条件

各組織 0.1 g から全 RNA を RNeasy Plant mini kit (Qiagen, Valencia, CA, USA) により抽出し、25 μg について oligotex-dT30 Super (Takara) により Poly(A)⁺ RNA の精製を行った。0.1 μg の Poly(A)⁺ RNA を用い、Avian RNaseH-minus 逆転写酵素を利用する Thermoscript RT-PCR system (Invitrogen San Diego, CA, USA) により逆転写した。プライマーには oligo(dT)₂₀ を用い、dCTP 濃度を 0.125 mM に改変した反応系を用いて [α -³²P]dCTP による標識を行った。反応後に未反応の塩基類の除去を PCR purification kit (Qiagen) により行った。

ゲノム DNA アレイ法による発現シグナル値 (signal intensity) の検出限界を検討するため、シロイヌナズナの Poly(A)⁺ RNA にヒト oestrogen-related receptor γ 遺伝子の合成 Poly(A)⁺ RNA を混合 (0.05-7.5 ng/100 ng) し、上述した条件で [α -³²P]dCTP により標識した。合成 Poly(A)⁺ RNA の増幅には、T7 RNA ポリメラーゼを用いる Ribo MAX system (Promega, Madison, WI, USA) を使用した。

(2) アレイハイブリダイゼーション条件

ブレハイブリダイゼーションは 5 M リン酸バッ

ファー (pH 7.2)、1 mM EDTA、7% SDS を用いて 55°C 12 時間行った。さらに同バッファーに熱変性 (98°C 5 分後氷水中で急冷) した標識プローブを加えて 55°C、14 時間のハイブリダイゼーションを行った。フィルターは 0.1% SDS、60°C で 30 分の洗浄を行った。高感度型イメージングプレート (Fuji film, Tokyo, Japan) を用いて室温で 18 時間のオートラジオグラフィーを行った。データの取り込みは STORM830 (Molecular Dynamics) を用いて 25 μm の解像度で行い、アレイ解析用ソフトウェア Array Vision (Imaging Research, Ontario, USA) により解析した。

4) アレイデータの有意判定条件

ハイブリダイゼーションは独立して3回の実験を行い、Fisher 法により $\text{LSD}_{0.01}$ を計算し、同一フィルター上のλファージ DNA スポットのシグナルとの比較を行い、有意なシグナルの判定を行った。バックグラウンド値の補正は、λファージのシグナル値を平均し、各ゲノム小断片のシグナル値から差し引いて行った。特異的な cDNA クローンの発現による実験誤差を考慮するため、2,880 個の独立した EST クローンの cDNA (Asamizu ら 2000) をスポットしたアレイフィルターを同時にハイブリダイゼーションし、得られたシグナルの合計値によるゲノムアレイデータの標準化 (割り算) を行ったものを 10,000 倍し、相対発現値として解析に使用した。

5) サザンプロット解析条件

新規な発現の認められたゲノムクローンを PCR により増幅し、塩基配列から予測される遺伝子構造領域を可能な限り単独な断片とする制限酵素部位をソフトウェア MacVector (Accelrys San Diego, CA, USA) により検索し、制限酵素消化したものを 2% のアガロースゲル電気泳動を行い、サザン

法によりナイロン膜に転写した。低温処理のコントロール区の葉から抽出した Poly(A)⁺ RNA を oligo (dT)20 プライマーにより逆転写し、[α -³²P]dCTP による標識を行った。ハイブリダイゼーションの条件は、プレハイブリダイゼーションの温度条件を 42°C とした他は上述したアレイ実験

のハイブリダイゼーション条件と同一であった。

6) RT-PCR 解析による新規遺伝子発現の同定

新規な遺伝子の発現を解析するため、個々のゲノムクローンの配列に基づき、遺伝子特異的なプライマーを設計した(表3)。

各プライマーの配列を以下に示す。

At5g51990:Fw5 ' -GATGTTGCTGCTTTAGCTCT-3 ' Rv5 ' -CCGTCAAAGTCGTTATGATT-3 '
 At5g52000:Fw5 ' -CACTGCAGGGACTAAAGAAC-3 ' Rv5 ' -CCTTCAACATGTTTTCCAAT-3 '
 At5g52110:Fw5 ' -CTGTTCTTCGCTTCACTTTT-3 ' Rv5 ' -CTCTGCTCCACTACAGAACC-3 '
 At5g56100:Fw5 ' -AAAGAACGACCGGTTCTTCG-3 ' Rv5 ' -TGTCTCGCAAGTAACGACTC-3 '
 At5g56110:Fw5 ' -GTACTCGTAATTGGCGTCTC-3 ' Rv5 ' -AGCAATCTCGTGAAAGTTGT-3 '
 At5g58280:Fw5 ' -CCCTCTTAGCTACTGCTGAA-3 ' Rv5 ' -GTCCAGCTCTTCTACCAATG-3 '
 At5g58370:Fw5 ' -GATCCATTACTCAACGCAGT-3 ' Rv5 ' -ACTGGTTCTTGTGCGAGACAT-3 '
 At5g58380:Fw5 ' -AGCCAAGTGTTTGTACTGAT-3 ' Rv5 ' -ACTTCAATGGTTCTTCCTGT-3 '
 At5g58390:Fw5 ' -TCCATCATTGTTCTTGTGCG-3 ' Rv5 ' -TTGCAAAGTCGCGGTAGAAG-3 '
 At5g66540:Fw5 ' -TCGTCTACCCACTAAAGGAA-3 ' Rv5 ' -GGCTGAAACGTTTGGTATAG-3 '

RT-PCR は低温処理実験の対照区の葉から抽出した Poly(A)⁺ RNA を 10 ng 用いて行った (Invitrogen)。ゲノム DNA の混入を避けるため、RT 反応の前に DNaseI 処理を行い(Takara)、1 %のアガロースゲル電気泳動により増幅産物の分離を行った。

7) 非遺伝子構造領域の解析

P1 クローン MCK7 中のゲノム小断片クローン PA02460725(75409-78173)を含む周辺のゲノム領域を以下のプライマーにより PCR 増幅(図 4a)し、

5)のゲルブロット解析条件に従いナイロン膜に転写し、低温処理のコントロール区の葉から抽出した Poly(A)⁺ RNA を oligo (dT)20 プライマーにより逆転写し、[α -³²P]dCTP による標識を行った。ハイブリダイゼーションの条件は、プレハイブリダイゼーション 42°C、12 時間、ハイブリダイゼーション 18 時間、洗浄 0.1×SSC、65°C、15 分×2 回で行った。

MCK7 中の位置(bp)	Forward	Reverse
a 385-1454	Fw 5'-AGCACCAGAGAGGGC-3'	Rv 5'-ATGTTGGCGTCACAGTC-3'
b 1564-2521	Fw 5'-TCGTTGAAGGACTCAGAG-3'	Rv 5'-GCAGAATCACTAACCGAG-3'
c 2136-2818	Fw 5'-CCTATTGCTGGTAAGTGG-3'	Rv 5'-TCTGGAGTGAAGTGAAGTAG-3'
d 2684-3202	Fw 5'-CAACCACGACATTCACG-3'	Rv 5'-GCACTGTTTTCTCTGTG-3'
e 3182-3992	Fw 5'-GTCACAGAGGAAAAACAGTG-3'	Rv 5'-GGAAAGTATCGTCACGGC-3'
f 3957-4504	Fw 5'-GACCAAAAGTGTTACCG-3'	Rv 5'-CTGGACGCATTACAATC-3'

g	4489-5369	Fw 5'-TTGTGAATGCGTCCAGAC-3'	Rv 5'-CGAATGTTCTCTCCCAATC-3'
h	5089-5710	Fw 5'-GTTACACAAGTCGTATGGTG-3'	Rv 5'-GTCCAAGCATTCTACAGAG-3'
i	5972-7045	Fw 5'-TTGCCCAATGGTGTG-3'	Rv 5'-AAAGAGCGTCGGATAGC-3'

8) ノーザンブロット解析条件

リン酸欠乏処理区の葉から、3)の標識プローブ調製方法に従い全 RNA を抽出し、25 μ g を定法に従いホルムアミド変性後、1.5 %アガロースゲル電気泳動を行い、ナイロン膜に転写した。EST クローン(K8K14.2)のインサート部位を PCR により増幅し、BcaBEST Labeling kit (Takara,Otsu,Japan)により $[\alpha\text{-}^{32}\text{P}]$ dCTP で末端標識し、ノーザン用プローブとした。ハイブリダイゼーション方法はサザンブロット解析条件と同一の方法で行った。

1-1-3 結 果

1) ゲノム DNA アレイを構成するゲノム小断片クローン

本研究に用いたゲノムクローンは、5 番染色体長腕部のテロメア側から約50%をカバーするゲノム小断片クローンを用いた。71個のP1クローン(Liu ら 1995) と、33 個の TAC (Transformation-competent artificial chromosome)クローン(Liu ら 1999)から作製した平均長2.9 kbのゲノム小断片クローン2541個で構成されていた。これらはすべて、かずさDNA研究所がシロイヌナズナゲノムプロジェクトにおいて塩基配列解読を行った領域であった(Tabataら2000)。

ゲノム配列解読プロジェクトでは、解読精度の向上と効率化のために各TACおよびP1クローン毎に約3 kbの小断片クローンを作製し、末端の500 bp程の配列情報を解読していた(Satoら1997)。本研究ではこれらの配列情報を基に、コンピュータサーチにより各親クローンを最小距離で連結している小断片クローンを用いた。ほとんどの親クロー

ンにおいて最小距離で連結するクローンを得ることができたが、6.8 Mbにわたる領域の約800 kbに相当する親クローンは保管中に増殖能力を失っており、実験には使用できなかった(表1中の青クローン)。条件検討用に選抜した平均80 kbのインサートを持つ10個の親クローンにもギャップ領域が存在したが、ゲノム情報からプライマー設計し、PCR法により連結ゲノム断片を増幅した。しかし、3カ所はギャップとして残った(図2 MNC6,MNC17,K1F13の星印)。この結果、小ゲノムアレイは339個のゲノム断片で構成され、長さの合計は810,589 bpであった(表1のオレンジ色のクローン)。

2) ゲノム DNA アレイ法における遺伝子発現量の定量性

ゲノムDNAアレイに使用したゲノム小断片中には複数の遺伝子領域が含まれる可能性が高い。従って、ゲノムDNAアレイによって得られる発現データには、強弱に違いのある複数の遺伝子発現量の合計が含まれていた。これに対しcDNAアレイでは、個々の遺伝子スポット間での発現変化を比較している。そこで本研究では、スライドガラスよりも再現性、信頼性に優れ、ダイナミックレンジも広いナイロン膜をアレイの支持体に用いたマクロアレイを使用した。またPoly(A)⁺ RNAの標識には、 $[\alpha\text{-}^{32}\text{P}]$ dCTPではなく、 $[\alpha\text{-}^{33}\text{P}]$ dCTPを用いた。 $[\alpha\text{-}^{33}\text{P}]$ dCTPは比活性が弱く放射線の飛距離が短いため、隣同士のハイブリダイゼーションシグナルの干渉を回避することが可能であった。

フィルター上にスポットするゲノム小断片クローンはPCR増幅後に濃縮を行い、アガロースゲル電

気泳動により夾雑クロンの有無と濃度推定を行った。この結果、ほとんどのクローンは100~200 ng/ μ lの範囲にあった。小ゲノムアレイ用に選抜したMNC6中のゲノムクローンをを用いた予備試験の結果から、スポットDNAの濃度が100ng/ μ lより少ない条件では、転写量の多い遺伝子ではシグナルの飽和が示されたことから、濃度の低いクローンについては再度濃縮を行い100 ng以上で調製した。また、フィルター上にスポットしたDNA量の均一性は、親クローンを標識したプローブによりハイブリダイゼーションを行い確認した。標識cDNA量を変えてハイブリダイゼーションを行った飽和量の検討結果から、100 ng/ μ l以上の濃度条件でアレイを作製した場合には、飽和は起こらないことが確認された。これらの実験は、異なるアレイフィルターを用いて3回繰り返すことによりデータの信頼度を高めた(データ未掲載)。

ハイブリダイゼーションシグナルの定量限界を検討するため、ヒト遺伝子のmRNAを内部コントロールとして用いた。5kbのoestrogen-related receptor γ cDNAからin vitro合成によりPoly(A)⁺ RNAを合成し、標識mRNAの0.05-7.5 % (w/w)となるようにシロイヌナズナPoly (A)⁺ RNAと混合し、プローブの調製を行った。この結果、ヒト遺伝子クローンのcDNA標識物は同一遺伝子のcDNAスポット(100 μ g/ μ l)対して、全濃度区で直線性を示した(図1)。

内部コントロール用ヒト遺伝子(5 kb)をPCRで3分割し、同一遺伝子のcDNAスポットに対してハイブリダイゼーションを行った。この結果、3つの分割断片全てにおいて同等のシグナルが得られたことから、逆転写はほぼ5kbまで伸長していることが明らかとなった(データ未掲載)。シロイヌナズナの平均的なタンパク質コード領域の長さは1.3 kb(AGI 2000)であるので、EST情報から推定される5'および3'のUTR長がそれぞれ約250 bp、200 bp

であると仮定すると(浅水私信)、シロイヌナズナ遺伝子からの転写産物のほとんどはゲノムDNAアレイにおいて定量性を示すと考えられた。この結果と同様の定量性については、Desprezら(1998)がシロイヌナズナESTを用いたDNAアレイによる遺伝子発現解析の論文において報告を行っている。

3) ゲノム DNA アレイ法による遺伝子発現解析

小ゲノム DNA アレイにより、低温処理を行ったシロイヌナズナの葉における遺伝子発現解析を行った。3週間生育させた植物体を暗黒条件下で8時間、4 °Cおよび22 °Cに維持し、それぞれの温度区から全 RNA の抽出を行った。oligo (dT)20 プライマーにより Poly(A)⁺ RNA を精製し、 $[\alpha\text{-}^{32}\text{P}]\text{dCTP}$ により標識したものを、小ゲノムアレイフィルターに対しハイブリダイゼーションした。有意データの検定を行うため、96 スポットの λ ファージ DNA をバックグラウンド値として用い、Fisher 法によるLSD_{0.01}検定を行った。この結果、339 個のゲノム DNA 断片において4 °C区と22 °C区でそれぞれ185 および204 クローンが有意と判定された。2つの区の遺伝子発現パターンを比較すると、低温処理に応答した特異的発現領域が認められた(図2)。また、ゲノム DNA アレイによる遺伝子発現結果は、各親クローン中に予測された遺伝子構造領域とよく一致していた。小断片クローン PA02460725 では有意なシグナルが認められたが、この領域の相同性検索を行っても遺伝子構造は予測されなかった。

LSD_{0.01} 水準での有意シグナルの検出限界は、ヒト遺伝子を用いた定量性実験の0.064 %混入に相当した。従って、本実験の遺伝子発現量は直線的な定量性を持つと推察された。

4) 新規な遺伝子発現の同定

低温処理した材料を用いた遺伝子発現解析結果に基づき(表2)、339 個のゲノム DNA 断片において

新規な遺伝子発現の同定を行った。コンピューター予測(Genscan および Grail)によるこの領域中の遺伝子数は 249 個、偽遺伝子が 16 個、tRNA が 6 個であった。また、EST クローンとして 151 個が既に報告されていた。そこで、有意なシグナルの得られたゲノム領域中で、未だ EST の見つかっていない 56 個の遺伝子を含む 50 個のゲノム小断片について解析した。ゲノム小断片クローンには複数の遺伝子が含まれていたため、各遺伝子を単独で断片化する制限酵素サイトをゲノム情報に基づき検索した(表 3)。1 ないし 2 種類の制限酵素により消化し、アガロースゲル電気泳動後にサザンブロットハイブリダイゼーションを行った。プローブには播種後 3 週間目のシロイヌナズナの葉から抽出した Poly(A)⁺RNA を用い、oligo(dT)20 プライマーによる逆転写を行い[α -³²P]dCTP で標識した cDNA を用いた。しかし、プロットティングに使用したゲルが紙資材の影響によりバックグラウンドが高くっており、発現量の高い遺伝子のみが検出可能であった。この結果、10 個の新規な遺伝子発現を同定することができた(表 3 図 3a)。さらに葉から抽出した Poly(A)⁺RNA を用いて、各検出遺伝子に特異的なプライマーによる RT-PCR を行った。増幅した DNA 断片の大きさは予測された遺伝子領域の大きさと一致したことから、各遺伝子は葉組織において発現していると考えられた(図 3b)。以上のことから、本法は新規な発現遺伝子の同定に適したものであることが明らかとなった。

同定された 10 個の遺伝子のうち、4 個の遺伝子から予測されるタンパク質構造は既知のタンパク質との相同性が無かった。残りの 6 個については Munich Information Center for Protein Sequences (以下 MIPS : <http://mips.gsf.de>)において遺伝子注釈されていた(表 3)。At5g56110 は *AtMyb103* をコードしており既に報告されている遺伝子であった(Li ら 1999, Hagginson ら 2003)が、EST データ

ベースには存在していなかった。セリンスレオニン型タンパク質キナーゼをコードしている At5g58380 と unknown タンパク質である At5g66540 は、この解析後に完全長 cDNA データベース (http://www.gsc.riken.go.jp/plant/group/pmet/a~c/full_length.html)に加えられていたが、EST データベースには存在していなかった。このことは、113330 個もの EST がエントリーされているデータベース (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/dbEST/dbEST_summary.html)には、まだ全発現遺伝子が存在していないことを示している。

5) 非遺伝子構造領域の解析

遺伝子構造が予測されていないが、有意な転写シグナルが得られた MCK7 中のゲノム領域 PA02460725 について発現領域の推定を行った。PA02460727 は 2 個のペルオキシダーゼ At5g58390 および At5g58400 に挟まれた場所に位置している(図 4A)。この領域について、解析ソフト MacVector(Accelrys)により 50 bp の解像度でドットマトリクス解析を行ったところ、マイクロサテライト配列様の AT に富んだ配列が 2 箇所存在していることが解った(図 4B)。PA02460727 と両隣のペルオキシダーゼ遺伝子を含むゲノム領域を PCR により 9 個の断片に分け、低温処理したシロイヌナズナの葉から抽出した mRNA の逆転写物をハイブリダイゼーションした。この結果、AT リッチな繰り返し配列で挟まれている部位(図 4A)付近が最も強く発現していることが示唆された。この領域に関して、他の遺伝子との相同性検索や snoRNA、microRNA 配列(Johnes. L 2002, Llave ら 2002, Qu ら 2001)との比較を行ったが相同な領域は無いため、新規な発現構造を含んだ領域であると予測された。

6) 植物ゲノムレベルでの遺伝子発現解析

(1) リン酸欠乏処理応答性ゲノム領域

MGRL 培地(Fujiwara ら 1992)を用いて 3 週間水耕栽培したシロイヌナズナ植物に対し、リン酸飢餓処理を行った。リン酸成分を除去したリン酸欠乏培地で 14 日間の処理を行い、地上部と根とに分けて組織の採取を行い、上述した小ゲノムアレイと同じ条件でプローブ調製ならびに 6.8 Mb ゲノム DNA アレイへのハイブリダイゼーションを行った。この結果、葉と根の各組織においてリン酸欠乏処理によって遺伝子発現が誘導されるゲノム領域と、逆に発現が抑制した領域を見いだすことができた(図 56 は根での発現変化例を示す)。解析の結果、リン酸欠乏処理に応答して遺伝子発現が 2 倍以上あるいは 1/2 倍以下に変化する領域が 174 カ所見いだされた(表 4)。

(2) ゲノム DNA アレイ結果のノーザン法による確認

TA00712905L(K8K14)クローンは、リン酸欠乏区において葉と根でそれぞれ 2 倍、5 倍の発現上昇が確認されたゲノム領域である(図 7A は根の結果を示す)。遺伝子注釈情報からは、この領域に転写因子 *Myb*-related protein 33.3 KD の存在が予測された。そこで、ゲノム DNA アレイにおける発現と実際の遺伝子発現とを比較するためにノーザンプロット解析を行った。プローブには *Myb*-related protein 33.3 KD の EST クローン (RZ10d03: KAC000703A)を PCR 法によって増幅したものをを用いた。根から抽出した全 RNA を用いた解析の結果、アレイによるデータとほぼ同様のリン酸欠乏に特異的な発現が認められた(図 7B)。また、この結果から *Myb*-related protein 33.3KD(現在は At5g67300)はリン酸欠乏により発現が上昇する遺伝子であることが解った。

(3) 6.8 Mb 中の非遺伝子構造領域解析

小ゲノム DNA アレイを用いた実験で見つかった非遺伝子構造領域からの発現シグナルと同様の領域が、6.8 Mb ゲノムアレイ中に 22 カ所存在した(表 5)。複数の遺伝子構造予測データベースや EST データベースを検索した結果、新たな EST クローンとの一致や、完全長 cDNA との比較によるエクソンの新規な追加が確認された。データベース検索では手掛かりの得られなかった K13P22 中の連続した領域 (No.864 および 865) には、シロイヌナズナ全染色体に存在する 490 塩基の反復配列が存在しており、90 %以上の相同性を持つ領域は 13 カ所存在していた。この反復配列を基に EST の検索を行った結果、5 番染色体上の 2 個の遺伝子 AJ133743(*ttg1*)と AJ131517(*MYB37* homolog gene and ORF1)の一部と一致したことから、他の領域の遺伝子発現が交叉ハイブリダイゼーションした可能性が示唆された。解析の結果、全く遺伝子情報に関する手掛かりの無い非遺伝子構造領域からの発現を 7 カ所同定することができた。以上の結果は、ゲノム DNA アレイによる遺伝子発現解析が、遺伝子注釈情報の有無に関わらず新規な EST や追加されたエクソン構造を含み、正確な遺伝子発現情報が得られていることを示す。

(4) 6.8 Mb 領域における遺伝子発現の全体像

6.8 Mb におよびゲノムからの遺伝子発現を解析した結果、シロイヌナズナ染色体レベルでの包括的な遺伝子発現状態を可視化することができた。ギャップ領域を除き、6.8 Mb 領域中の 6 Mb で高密度な遺伝子発現が起きている様子が明らかとなった(図 8)。

1-1-4 考察

5番染色体の819kbをカバーした小ゲノムDNAアレイによって、249個の構造予測された遺伝子につ

いて詳細な発現解析を行った。この結果、発現領域のシグナルを再現性と定量性を伴って測定できることを明らかにした。また、低温処理やリン酸欠乏処理に対して特異的に遺伝子発現するゲノム領域を明らかにできた。6.8 Mbにわたるゲノム領域を対象としたゲノムDNAアレイでは、リン酸欠乏処理によって発現が大きく変化する領域を174カ所同定した。今後さらにこの領域を解析することで、リン酸欠乏に特異的な遺伝子の同定が可能である。

現在の遺伝子構造予測プログラムでは予測不可能な遺伝子構造からの転写シグナルも検出できる可能性が示された。PA02460725 クローンでは遺伝子構造が予測されていないが、有意な転写シグナルが検出された(図 4)。この他にも 6.8 Mb におよぶ領域中から、コンピューターによる遺伝子構造予測とは無関係に 22 カ所の遺伝子発現領域を見だし、そのうちの 5 カ所が新規な非遺伝子構造からの発現領域であると推察された。

ゲノム DNA アレイに使用したクローンは遺伝子構造予測と無関係に選択されたが、遺伝子を単独で含むゲノム小断片クローンを使用すれば、cDNA アレイと同様の発現解析が可能であった。実際には複数の遺伝子が含まれた断片であったため、制限酵素処理とサザンブロット法を用いて新規な遺伝子からの発現を同定する必要があった。シロイヌナズナにおいては 25,498 個の遺伝子の存在が予測されているが、その 60%程度が EST データベースに含まれているに過ぎない(AGI 2000)。本研究で開発したアプローチは、EST の存在とは無関係に、新規な遺伝子発現の同定が可能である。今回使用したクローンは平均長 2.9 kb のショットガンシーケンス用クローンであったが、もし 500 bp 程度の小断片クローンを使用すれば、分割せずに遺伝子発現が同定できる可能性がある。しかし、アレイを構成するクローン数は莫大な数となる。

本研究で見いだした非遺伝子配列からの転写産物については、snoRNA や microRNA(Johnes L2002, Llave ら 2002, Qu ら 2001, Brown ら 2003)などとの相同性はなかった。エクソンが新たに追加された遺伝子や、後から新規な EST が見つかった例があったことから、本手法による遺伝子発現解析は正確な遺伝子発現情報を反映したものであることが示唆された。選択的スプライシング(Zhou ら 2003)などの複雑な遺伝子発現機構への対応を含め、解析精度を高めたゲノム DNA アレイの開発が今後必要である。

遺伝子の転写は染色体構造レベルでの調節を受けることが知られている。例えばDNase-I感受性や(Vega-PalasとFerl 1995, VershininとHeslop-Harrison 1998)、DNAメチル化機構である(Luffら 1999)。シロイヌナズナはメチル化による遺伝子発現調節を受ける植物として、初めてシーケンスが行われた植物であり、エピジェネティックな遺伝子制御に関する研究が行われている(AGI 2000)。ゲノムDNAアレイによる遺伝子発現解析手法は、特定の染色体領域における遺伝子発現情報を得る目的や、遺伝子発現と染色体構造との関係を研究する目的に適している。

約6.8 Mbの遺伝子発現解析を行った結果、シロイヌナズナのゲノムでは高密度な遺伝子発現がゲノム全体で起きていることが解った。しかし、他の高等生物で知られているヘテロクロマチン化した領域における発現の抑制や(Grewalら 2003)、遺伝子発現転写単位(インシュレーター構造:Kuhnら 2003)については確認されなかった。

今回の規模でシロイヌナズナゲノム全体を対象としたゲノムDNAアレイを作製すると、約50,000個のクローンが必要になる。マイクロアレイの現在の技術であれば、2~3cmのスライドガラス領域に50,000個以上の遺伝子をスポットすることが可能である(Ramsy 1998)。この数年の間に、シロイヌ

ナズナではT-DNAやトランスポゾンを用いたタグラインが数多く作られてきた(BouchezとHoéfte 1998)が、ゲノムDNAアレイ法はタグラインの特性識別や、タグ領域の特定などを簡単に行える手法であると考えている。また、ゲノムDNAにはプロモーター配列も含まれているため、転写因子として遺伝子発現制御を行っているDNA結合タンパク質との相互作用を解析する目的でも使えるであろう(Kehoeら 1999)。

1-1-5 図および表

表1.ゲノムDNAアレイに使用した5番染色体ゲノムクローン

青は欠落クローン、オレンジ色は小ゲノム DNA アレイに使用したクローンを意味する。また、ゲノム上の位置(relative genome)は、13 Mb にわたるクローニング領域(MGG23～LA522)中の位置を示している。

クローン名	Accession No.	長さ(bp)	相対的ゲノム位置(bp)		小断片数 個	KDRI名称
			開始位置	末端位置		
K2I5	AB025613	71807	6932281	6999089	30	TA0142
K2IG20	AB025612	35238	7004088	7034327	16	TA0221
K9P8	AB024032	70670	7039326	7104997	33	TA0151
MPF21	AB026650	64569	7109996	7169566	24	PA0251
K6A12	AB024031	64136	7174565	7233702	28	TA0268
MXI22	AB012248	80115	7238701	7313817	39	PA0146
MB10	AB025619	46323	7318816	7360140	15	PA0319
MFB16	AB023037	66087	7365139	7426227	21	PA0176
K7B16	AB025617	26721	7431226	7452948	20	TA0328
K16E14	AB026637	8850	7457947	7461798		
K3K7	AB017063	68726	7466797	7530524	25	TA0205
MWD22	AB023044	87180	7535523	7617704	37	PA0294
MFG13	AB025621	48008	7622703	7665712	20	PA0301
K17N15	AB018109	81293	7670711	7747005	33	TA0254
K10D11	AB025607	13379	7752004	7760384	7	TA0345
MI024	AB010074	86212	7765383	7846596	35	PA0115
MJM18	AB025623	16203	7851595	7862799	7	PA0339
MSG15	AB015478	81347	7867798	7944146	41	PA0156
F17P19	AB025603	48420	7949145	7992566	21	FA0357
K24M7	AB019226	73999	7997565	8066565	28	TA0266
T4M5	AP000378	18384	8071564	8084949		
F6N7	AB025606	74282	8089948	8159231	29	FA0324
MXC20	AB009055	81575	8164230	8240806	45	PA0080
MNB8	AB018116	46872	8245805	8287678	19	PA0241
MFH8	AB025622	62420	8292677	8350098	25	PA0353
K19E1	AB013388	73428	8355097	8423526	30	TA0170
MYN8	AB020754	54528	8428525	8478054	21	PA0242
MNC6	AB015476	82952	8483053	8561006	36	PA0183
MGN6	AB017066	61380	8566005	8622386	26	PA0203
K608	AB025616	2163	8627385	8624549		
K19P17	AB007644	73840	8629548	8698389	31	TA0067
MJP23	AB018115	31827	8703388	8730216	13	PA0210
K18G13	AB013387	31309	8735215	8761525	16	TA0159
MKD4	AB010695	78596	8766524	8840121	34	PA0139
GA469	AP000380	7717	8845120	8847838		
F24B18	AB026634	50524	8852837	8898362	18	FA0391
MRB17	AB016879	75744	8903361	8974106	33	PA0194
K5F14	AB022214	31178	8979105	9005284	14	TA0287
MBG8	AB005232	80315	9010283	9085599		
K13P22	AB017059	19971	9090598	9105570	11	TA0219
MCO15	AB010071	82918	9110569	9188488	36	PA0125
MTE17	AB015479	80675	9193487	9269163	34	PA0160
MWC10	AB023043	3542	9274162	9272705		
MDF20	AB009050	86699	9277704	9359404	38	PA0108
MWJ3	AB018120	42356	9364403	9401760	23	PA0189
MYN21	AB026659	28207	9406759	9429967	11	PA0390
MDA7	AB011476	82033	9434966	9512000	36	PA0126
K24C1	AB023029	29498	9516999	9541498	13	TA0317
MKK23	AB026656	9670	9546497	9551168	4	PA0406
MCD7	AB009049	87685	9556167	9638853	35	PA0101
MKN22	AB019234	27229	9643852	9666082	12	PA0207
MIK19	AB013392	84129	9671081	9750211	34	PA0109
MP110	AB020747	29605	9755210	9779816	10	PA0153
MHM17	AB024035	78423	9784815	9858239	32	PA0083
MUL3	AB023042	82010	9863238	9940249	37	PA0063
MJB24	AB019233	58589	9945248	9998838	28	PA0084
MSF19	AB016891	34508	10003837	10033346	16	PA0154
MUA2	AB011482	83478	10038345	10116824	37	PA0062
MRI1	AB018118	50700	10121823	10167524	19	PA0155
MTI20	AB013396	79676	10172523	10247200	30	PA0134
F2C19	AB026635	2872	10252199	10250072		
K21L19	AB024029	41087	10255071	10291159	23	TA0285
MCK7	AB019228	87090	10296158	10378249	36	PA0246
MQJ2	AB025632	51440	10383248	10429689	20	PA0371
MZN1	AB020755	81672	10434688	10511361	33	PA0286
K19M22	AB016885	77758	10516360	10589119	35	TA0218
K18B18	AB024027	35896	10594118	10625015	15	TA0308
MNC17	AB016890	75803	10630014	10700818	29	PA0217
F2015	AB025604	75125	10705817	10775943	29	FA0327
MTH12	AB006705	74877	10780942	10850820		
MMN10	AB015475	84325	10855819	10935145	40	PA0180
MG03	AB019231	43570	10940144	10978715	18	PA0222
F15L12	AB026632	54987	10983714	11033702		
K9B18	AB015471	10085	11038701	11043787	4	TA0181
MUF9	AB011483	77298	11048786	11121085	28	PA0128
MUP24	AB005246	77999	11126084	11199084		
MAE1	AB015472	54632	11204083	11253716	26	PA0191
MSL3	AB008269	61634	11258715	11315350	25	PA0100
MAF19	AB006696	78379	11320349	11393729		
MFB13	AB010073	80376	11398728	11474105	34	PA0102
MC12	AB016887	15607	11479104	11489712	9	PA0201
K11J9	AB012239	69142	11494711	11558854	28	TA0164
MAC9	AB010069	57246	11563853	11616100		
K22G18	AB022212	45453	11621099	11661553	22	TA0289
MTG10	AB016880	81284	11666552	11742837	33	PA0186
MMI9	AB019235	81736	11747836	11824573	32	PA0226
K19B1	AB015469	69927	11829572	11894500	27	TA0187
MRG21	AB020751	55151	11899499	11949651	20	PA0265
MQB2	AB009053	78145	11954650	12027796	34	PA0104
MJH22	AB009051	27856	12032795	12055652	11	PA0106
MDC12	AB008265	81662	12060651	12137314	30	PA0090
K9H21	AB023035	15319	12142313	12152633	8	TA0291
MLE2	AB007649	58527	12157632	12211160	22	PA0068
MBK5	AB005234	89779	12216159	12300939		
MG119	AB007646	37225	12305938	12338164	14	PA0069
MBM17	AB019227	52717	12343163	12390881	21	PA0234
MJH24	AB008266	48622	12395880	12439503	19	PA0091
MSJ1	AB008268	83594	12444502	12523097		
T12B11	AB025640	22022	12528096	12545119	9	UA0343
MUB3	AB010076	82188	12550118	12627307		
MVP7	AB025637	39645	12632306	12666952	24	PA0368
MXK3	AB019236	81948	12671951	12748446	33	PA0259
F1505	AB026633	17878	12753445	12766324	7	FA0383
MQN23	AB013395	86064	12771323	12852388	37	PA0162
MNA5	AB011479	88356	12857387	12940744	34	PA0161
K1904	AB026638	7240	12945743	12947984		
K21L13	AB026639	63921	12952983	13011905	30	TA0258
MPA24	AB010075	84440	13016904	13096345	33	PA0112
K22J17	AB020743	11211	13101344	13107556		
K14B20	AB018108	40251	13112555	13147807	16	TA0249
K2A18	AB011474	79899	13152806	13227706	34	TA0135
K1L20	AB022211	47665	13232705	13275371	17	TA0250
K1F13	AB013389	83511	13280370	13358882	34	TA0179
MSN2	AB018119	62927	13363881	13421809	24	PA0225
MUD21	AB010700	69850	13426808	13491659	25	PA0136
K8A10	AB026640	31132	13496658	13522791	23	TA0364
K21H1	AB020742	74342	13527790	13597133	32	TA0267
K3G17	AB025614	15290	13602132	13612423	6	TA0379
K8K14	AB007645	72698	13617422	13685121	40	TA0071
K9I9	AB013390	51860	13690120	-4999	25	TA0174
合計 (b p) ※		6068356	全ゲノム小断片数 (個)		2541	

※ 合計の長さは欠落クローンを除いた数字

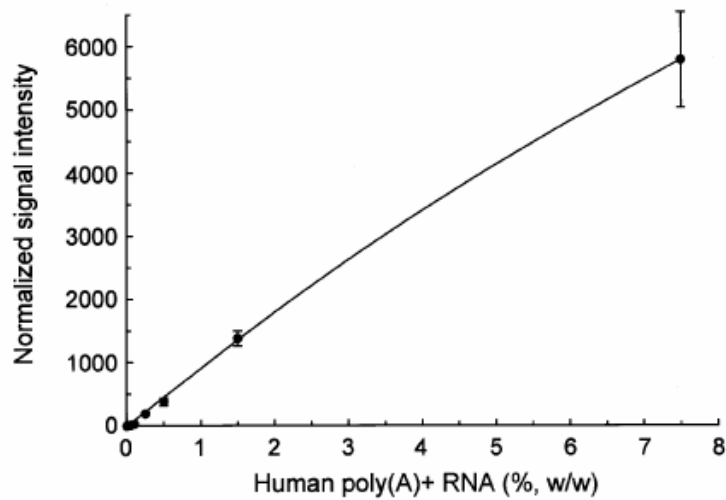
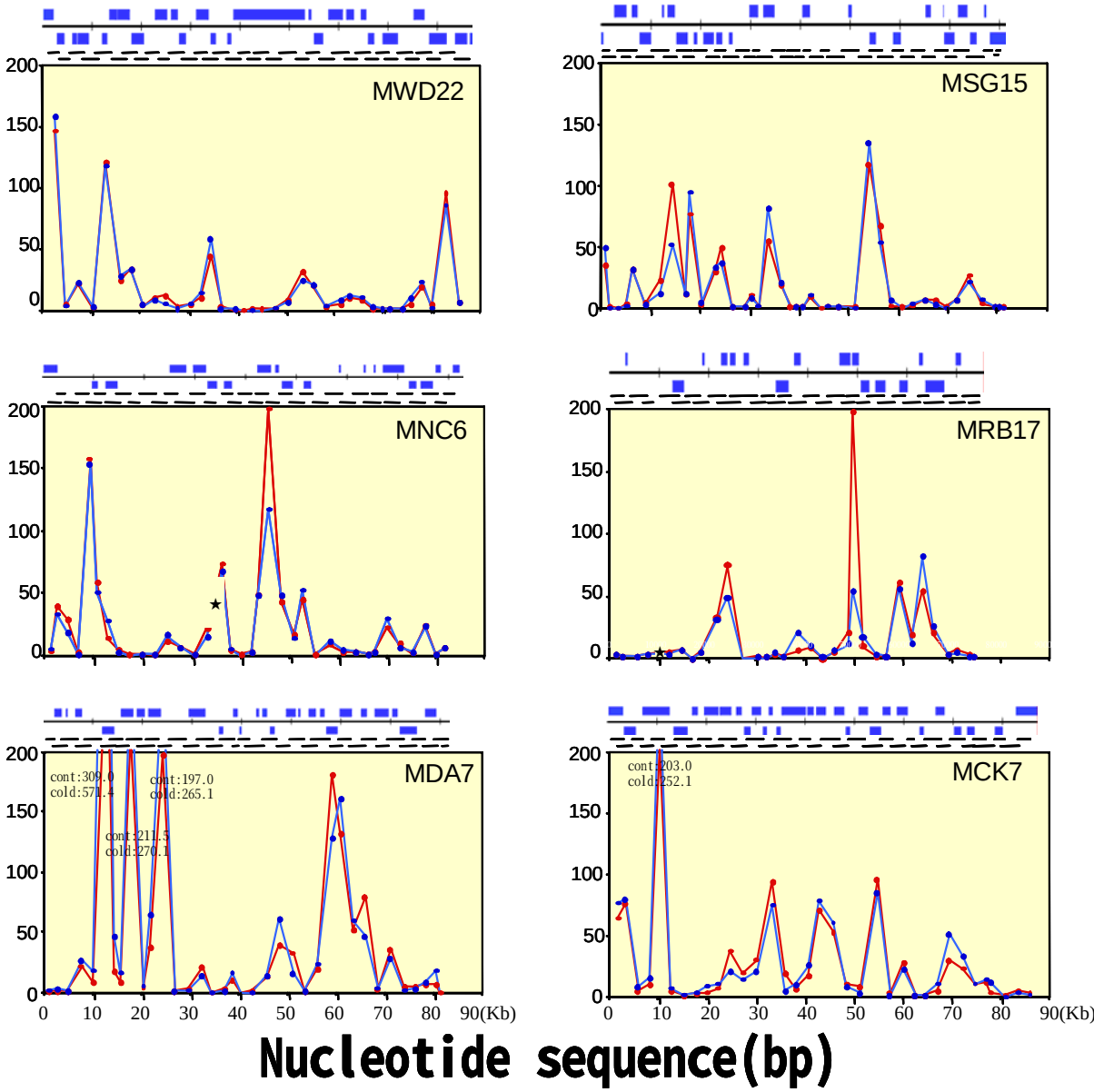


図1. 内部コントロール（ヒト遺伝子）による、ゲノムDNAアレイの定量性の検討

合成ヒト γ エストロゲンレセプターcDNAをシロイヌナズナの葉から抽出したmRNAに混合し、 $[\alpha\text{-}^{33}\text{P}]\text{dCTP}$ により標識した逆転写産物をゲノムDNAアレイにハイブリダイゼーションした。平準化は、各スポットのシグナル値からネガティブコントロール（ λ DNA）値を引き、フィルター毎の総シグナル値で割った値に10,000を掛けて行った。実験は独立して3回の繰り返し実験を行った。

(a)



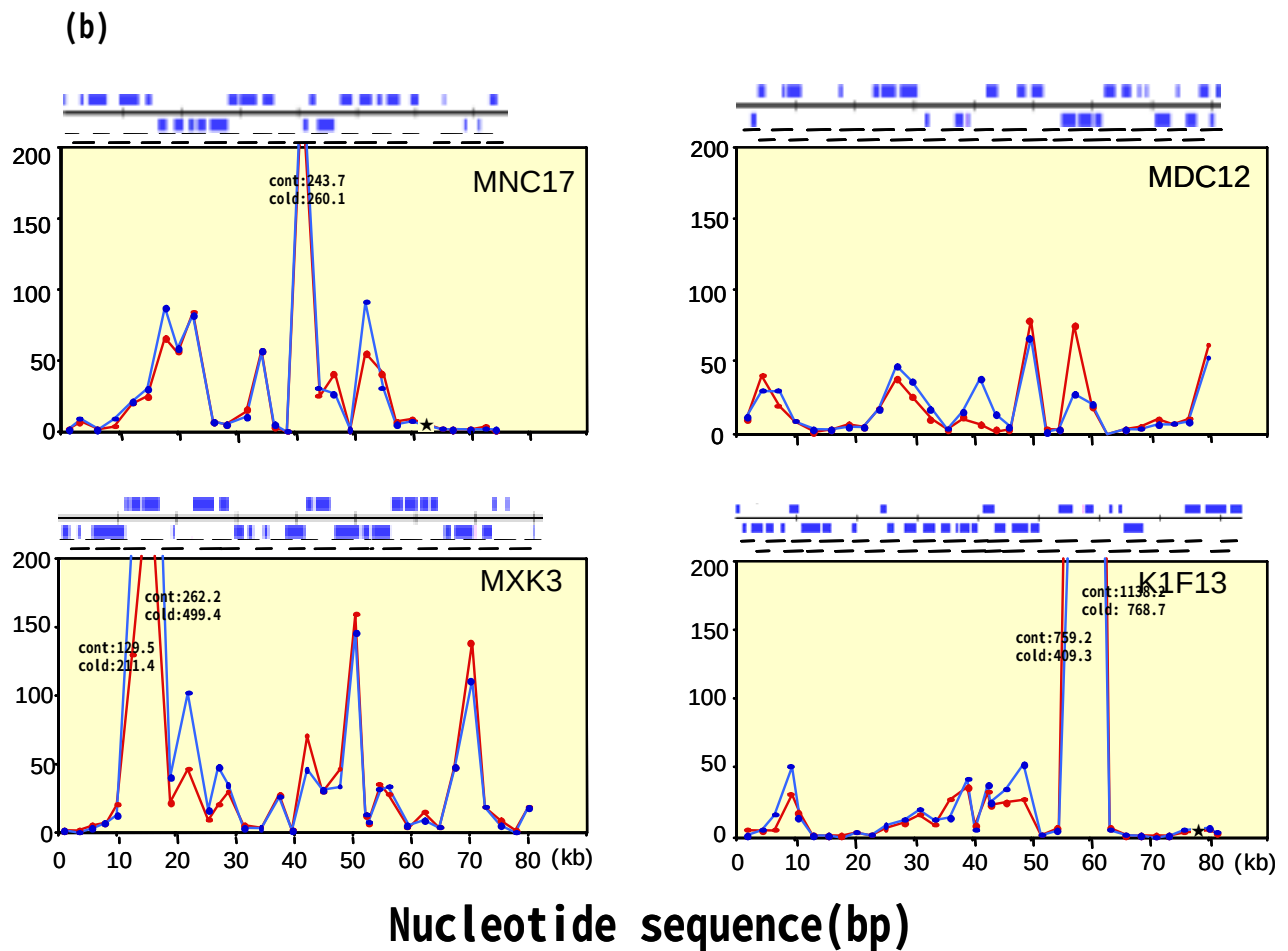


図 2. (a)(b) 小ゲノム DNA アレイによるシロイヌナズナゲノムにおける遺伝子発現

5 番染色体上のゲノム断片を含む 9 個の P1 クローンおよび 1 個の TAC クローン (<http://www.kazusa.or.jp/kaos>)を解析した。各図の上部の青いボックスは遺伝子構造領域を意味し、上段は左から右に 5'→3'、下段は逆向き方向性を持つ遺伝子を意味する。その下の黒の実線はゲノムアレイに使用した各小断片クロンのオーバーラップ状態を示している。3 週間無菌培養したシロイヌナズナに暗黒条件下で 4℃、8 時間の低温処理を行った。青線はコントロール、赤線は低温処理区である。200 以上の発現量を示したクロンは図中に数値を示した。

★印はクロンの欠落箇所を示している。

表 2. 小ゲノム DNA アレイによる遺伝子発現解析結果

ゲノム DNA アレイ法による遺伝子発現解析条件の検討を行うため、5 番染色体長腕部をカバーする 9 個の P1 クローン (MXK3, MDC12, MNC17, MCK7, MDA7, MRB17, MNC6, MSG15, MWD22) 及び 1 個の TAC クローン (K1F13) に含まれる 339 個のゲノム小断片による小ゲノムアレイを作製した。3 週間の無菌培養を行ったシロイヌナズナに暗黒条件下で 4℃、8 時間の低温処理を行い、葉から抽出した mRNA を用いてゲノム DNA アレイにハイブリダイゼーションを行った。

親クローン	親クローン内のゲノム断片位置	コントロール区			低温処理区			標準化シグナル値				
		Exp1	Exp2	Exp3	Exp1	Exp2	Exp3	コントロール区	低温処理区			
MWD22	PA02941532L	1452	-	3840	8981	4131	9485	7811	8139	12803	146.7	158.2
MWD22	PA02941586L	3746	-	6095	348	339	325	504	348	439	3.5	3.3
MWD22	PA02941109L	5744	-	8830	1244	1844	609	1508	592	2587	21.3	22.4
MWD22	PA02941713L	8708	-	11806	180	286	295	305	339	474	1.9	2.3
MWD22	PA02941524L	11198	-	14509	6451	4177	8128	6388	4995	10330	121.2	118.4
MWD22	PA02941773L	14354	-	17681	1144	2126	871	1326	2419	1884	24.3	27.7
MWD22	PA02941218L	16806	-	19477	2613	2150	739	1387	2112	3016	33.3	32.7
MWD22	PA02941715L	19099	-	21966	291	388	359	356	501	544	3.7	3.9
MWD22	PA02941126L	21491	-	24322	373	698	857	541	534	930	9.6	7.3
MWD22	PA02941178L	23917	-	26282	780	777	694	523	452	646	11.8	5.1
MWD22	PA02941174L	26022	-	29328	356	358	182	247	222	385	2.8	0.8
MWD22	PA02941759L	28854	-	31847	268	417	417	362	775	481	4.1	5.1
MWD22	PA02941448L	31149	-	33859	817	199	964	1159	1006	1026	9.9	14
MWD22	PA02941652L	33133	-	35836	2409	3153	1535	2432	3438	5194	43.9	58.4
MWD22	PA02941484L	35351	-	38119	314	324	229	298	300	302	2.6	1.1
MWD22	PA02941653L	37990	-	41133	169	189	141	246	336	206	0.1	0.4
MWD22	PA02941278L	40286	-	42595	171	152	184	175	152	289	0.2	-0.5
MWD22	PA02941319L	42050	-	44450	160	208	165	278	166	264	0.4	-0.03
MWD22	PA02941435L	43601	-	46328	140	192	207	183	158	192	0.4	-1
MWD22	PA02941203L	46259	-	49064	211	203	280	282	303	383	1.4	1.4
MWD22	PA02941651L	48633	-	52274	485	662	523	464	636	761	7.9	6.5
MWD22	PA02941649L	51928	-	54650	1658	1794	1683	1319	808	2906	30.9	24.4
MWD22	PA02941464L	54289	-	56812	1022	1407	979	1527	1075	1679	19.4	20.1
MWD22	PA02941634L	56554	-	59934	206	307	284	307	468	496	2.1	3.2
MWD22	PA02941104L	59369	-	62732	377	481	240	560	738	840	4.1	8
MWD22	PA02941582L	62028	-	64372	731	750	430	1074	389	1228	9.5	11.2
MWD22	PA02941212L	64093	-	66810	598	807	279	990	629	974	8	10.6
MWD22	PA02941209L	66466	-	68811	156	193	238	507	337	324	0.7	2.6
MWD22	PA02941710L	68545	-	71023	260	231	221	376	263	277	1.5	1.2
MWD22	PA02941546L	70117	-	72669	146	191	282	251	175	336	0.9	0.3
MWD22	PA02941645L	72574	-	75500	184	235	222	215	286	338	1.1	0.7
MWD22	PA02941669L	74262	-	77131	396	508	270	649	736	1002	4.6	9.4
MWD22	PA02941570L	76511	-	79374	1047	1691	587	1509	1290	2094	18.9	23.6
MWD22	PA02941337L	78579	-	81340	340	379	315	286	342	421	3.7	1.9
MWD22	PA02941723L	81241	-	84481	4113	5802	4949	5157	3126	7709	95.4	86.2
MWD22	PA02941273L	84259	-	87069	455	457	383	483	682	741	5.4	6.7
MNC6	PA01831580L	1	-	2450	261	399	333	386	573	545	3.4	4.5
MNC6	PA01831665L	1377	-	3561	1792	2460	2161	1725	1778	3117	39.4	33.3
MNC6	PA01831867L	3310	-	5879	1676	1499	1656	994	850	2129	28.9	18.4
MNC6	PA01831310L	5528	-	8190	196	275	272	273	327	224	1.7	0.6
MNC6	PA01831265L	7651	-	10636	7346	7875	9065	9657	10744	7615	157.9	154
MNC6	PA01831444L	9282	-	11831	3465	4078	1788	2853	2896	4020	58.7	51.1
MNC6	PA01831726L	11510	-	14474	735	883	965	1779	1650	2288	14	28.2
MNC6	PA01831878L	13775	-	16757	402	389	419	449	294	480	4.8	2.9

ゲノム生物学的手法による植物のリン酸応答機構に関する研究

親クローン	親クローン内のゲノム 断片位置	コントロール区			低温処理区			標準化シグナル値				
		Exp1	Exp2	Exp3	Exp1	Exp2	Exp3	コントロール区	低温処理区			
MNC6	PA01831632L	16051	-	18700	175	224	188	208	174	256	0.7	-0.4
MNC6	PA01831183L	18500	-	21732	187	210	184	209	245	319	0.7	0.3
MNC6	PA01831386L	21209	-	24116	144	140	189	351	223	235	-0.05	0.5
MNC6	PA01831778L	23900	-	26156	857	670	620	545	777	2180	11.1	15.7
MNC6	PA01831746L	25972	-	29682	262	589	656	515	829	386	6.8	5.7
MNC6	PA01831257L	29011	-	32200	166	207	221	249	200	265	0.8	0.01
MNC6	PA01831775L	32000	-	34267	1180	1430	1097	1169	850	1332	21.4	14.9
MNC6	PA01831804L	35251	-	37638	2844	3992	4714	2521	866	9246	73.4	67.2
MNC6	PA01831696L	36401	-	39538	242	519	384	464	609	492	4.4	4.8
MNC6	PA01831587L	38880	-	41490	156	185	200	163	213	196	0.4	-0.8
MNC6	PA01831608L	41176	-	43472	298	366	230	349	303	414	2.7	2
MNC6	PA01831794L	42452	-	45005	2230	3107	2566	3035	2946	3202	49.2	47.8
MNC6	PA01831431L	44628	-	47060	9628	13620	7158	8185	2553	10856	198.5	117.8
MNC6	PA01831547L	46982	-	49541	1918	2381	2626	3673	2642	2870	42.8	47.8
MNC6	PA01831833L	49358	-	52354	677	1233	1130	1296	620	1298	17	14.1
MNC6	PA01831857L	51608	-	54080	3622	2649	992	2205	3036	4762	45	52.4
MNC6	PA01831706L	53944	-	56916	105	201	221	237	155	275	0.3	-0.3
MNC6	PA01831318L	56706	-	60055	553	518	682	754	859	1094	8.4	11.2
MNC6	PA01831588L	59801	-	62470	263	296	214	356	500	537	1.9	3.8
MNC6	PA01831834L	62274	-	65258	241	255	232	430	259	336	1.6	1.8
MNC6	PA01831694L	64496	-	67920	178	295	237	260	211	342	1.5	0.6
MNC6	PA01831504L	66225	-	69027	325	281	377	358	401	346	3.3	2.2
MNC6	PA01831218L	68728	-	71734	1313	754	1762	1417	2362	2156	22.2	29.5
MNC6	PA01831440L	71197	-	74343	642	693	483	750	420	601	8.9	6
MNC6	PA01831791L	73802	-	77004	247	197	255	301	319	421	1.5	1.9
MNC6	PA01831875L	76423	-	79600	1172	1258	1699	1443	1056	2236	24.2	22.7
MNC6	PA01831266L	79217	-	81094	207	238	229	242	270	312	1.3	0.6
MNC6	PA01831455L	80940	-	82952	496	375	534	627	425	665	6.1	5.7
MDA7	PA01261768L	1	-	1701	155	224	206	258	268	506	0.7	1.8
MDA7	PA01261818L	1318	-	4110	161	227	238	406	368	374	1	2.5
MDA7	PA01261559L	2879	-	6489	174	239	183	265	270	363	0.8	1.1
MDA7	PA01261542L	6013	-	9018	1056	1166	1507	1256	1764	2353	21.5	26.3
MDA7	PA01261325L	7901	-	11671	457	933	309	819	1241	1797	8.1	17.7
MDA7	PA01261596L	11334	-	14136	17755	9230	20079	31442	21764	48814	309	571.4
MDA7	PA01261992L	12801	-	15530	678	1463	882	2511	2725	3771	16.9	46.8
MDA7	PA01261955L	14336	-	16961	226	933	514	1206	960	1330	7.9	15.7
MDA7	PA01261733L	16309	-	19354	9818	10220	12322	12590	11862	24145	211.5	270.1
MDA7	PA01261348L	18682	-	21836	475	284	436	408	555	640	4.7	5
MDA7	PA01261973L	20405	-	23143	1188	1975	2892	3135	3249	5871	37	65.1
MDA7	PA01261432L	22912	-	25372	9717	13846	6622	17687	10631	19403	197	265.1
MDA7	PA01261310L	25232	-	28318	139	209	172	244	268	250	0.3	0.3
MDA7	PA01261341L	28010	-	31264	173	337	337	265	223	537	2.4	1.8
MDA7	PA01261366L	30792	-	33882	1133	1347	1120	1156	887	1161	20.7	14.1
MDA7	PA01261302L	32946	-	35573	141	178	156	246	212	256	-0.03	0.01
MDA7	PA01261861L	35467	-	38157	401	245	176	235	356	327	2.3	1.2
MDA7	pa01260901	37668	-	39233	737	713	613	867	1466	1271	10.5	16.3
MDA7	PA01261754L	39183	-	41614	123	148	166	240	137	231	-0.3	-0.6
MDA7	PA01261514L	40709	-	44167	174	208	247	201	203	338	1	0.2
MDA7	PA01261315L	44037	-	47057	704	663	984	577	1204	1372	12.4	13.8
MDA7	PA01261616L	46956	-	49779	1655	2205	2473	2369	4082	5015	38.8	60.7
MDA7	PA01261851L	49528	-	52378	2386	1184	1774	811	1145	1463	32.3	15.3
MDA7	PA01261314L	52097	-	55121	154	174	236	231	238	348	0.6	0.6
MDA7	PA01261613L	54073	-	57933	772	1159	1351	1850	1174	1824	18.6	23.3
MDA7	PA01261674L	57757	-	60424	9586	9336	8832	8138	10234	5015	180.9	127.9
MDA7	PA01261871L	59395	-	62329	1656	8828	9897	13310	7567	8297	132	160.5
MDA7	PA01261856L	61672	-	65158	1920	3698	2577	2831	4688	3862	51.2	60.2

親クローン	親クローン内のゲノム 断片位置				コントロール区			低温処理区			標準化シグナル値	
					Exp1	Exp2	Exp3	Exp1	Exp2	Exp3	コントロール区	低温処理区
MDA7	PA01261676L	64361	-	67354	2451	3176	6823	4264	1921	2827	79.4	46.8
MDA7	PA01261990L	67157	-	69732	232	363	270	356	314	585	2.6	3.1
MDA7	PA01261611L	69400	-	72729	1806	2027	1908	2008	1835	1960	34.9	28.7
MDA7	PA01261505L	72149	-	75383	211	571	335	330	244	464	4.2	1.8
MDA7	PA01261558L	74746	-	77198	326	442	343	385	300	514	4.2	2.7
MDA7	PA01261884L	76541	-	79659	618	479	361	582	690	892	6.5	8.2
MDA7	PA01261901L	78854	-	81921	676	541	260	924	1215	1797	6.6	18.2
MDA7	PA01261364L	80793	-	82033	115	169	176	189	218	215	-0.1	-0.5
MNC17	PA02171171L	1	-	2259	233	260	283	242	313	314	2	0.9
MNC17	PA02171278L	1419	-	5100	436	479	547	634	763	890	6.5	8.9
MNC17	PA02171694L	4778	-	7674	235	247	242	216	317	381	1.6	1.1
MNC17	PA02171265L	7455	-	10970	361	288	350	659	663	852	3.4	8.2
MNC17	PA02171226L	10210	-	14143	1142	1677	553	1148	810	2299	19.2	20
MNC17	PA02171479L	13152	-	16573	1110	1530	1514	1656	1786	2518	24.4	29.6
MNC17	PA02171395L	16490	-	19087	4219	3893	2242	2437	5505	8149	65.5	86.7
MNC17	PA02171367L	18675	-	21206	2466	2747	3685	4186	2870	3895	55.8	57.7
MNC17	PA02171380L	20551	-	24393	4871	5486	2789	5281	4086	5727	84	81.1
MNC17	PA02171252L	24207	-	27795	299	520	480	605	444	775	5.4	6.3
MNC17	PA02171551L	26779	-	30098	349	469	349	369	438	770	4.6	4.9
MNC17	PA02171257L	29939	-	33112	1028	986	683	742	831	918	14.7	10
MNC17	PA02171703L	32582	-	35815	2626	3246	3061	3085	3870	3638	56.1	55.7
MNC17	PA02171175L	35212	-	37773	240	351	248	420	463	535	2.4	4
MNC17	PA02171655L	37377	-	39997	151	169	173	228	203	305	0.1	0.1
MNC17	PA02171125L	39477	-	43025	9227	9916	18081	9550	13649	23625	243.7	260.1
MNC17	PA02171414L	42699	-	45522	690	995	2538	1164	2242	2729	24.8	30.6
MNC17	PA02171114L	44883	-	48508	2094	1639	280	1207	2575	1589	40.2	26.3
MNC17	PA02171260L	48117	-	50585	233	171	214	229	269	264	0.9	0.3
MNC17	PA02171160L	50380	-	53855	1559	4255	2806	5168	5790	5898	54	91.1
MNC17	PA02171425L	53576	-	56291	2068	2361	2092	923	2659	2443	40.1	30
MNC17	PA02171408L	55844	-	58988	341	472	651	516	305	692	6.5	4.5
MNC17	PA02171605L	58555	-	61202	470	520	596	642	281	991	7.3	6.8
MNC17	PA02171308L	63771	-	66578	265	226	223	310	331	364	1.5	1.6
MNC17	PA02171644L	65283	-	68841	169	191	164	212	221	342	0.3	0.4
MNC17	PA02171501L	68651	-	71732	203	215	266	280	260	306	1.4	0.8
MNC17	PA02171760L	71125	-	73820	256	423	270	420	298	364	3.1	2.1
MNC17	PA02171130L	73083	-	75803	138	180	176	234	253	302	0.1	0.4
MXK3	PA02591321L	1	-	1905	185	291	178	248	241	350	1.2	0.7
MXK3	PA02591826L	1705	-	4896	172	186	191	197	209	347	0.5	0.2
MXK3	PA02591834L	4320	-	7275	326	527	270	369	379	482	4.3	2.9
MXK3	PA02591883L	6130	-	9821	435	521	422	567	574	647	6	6.1
MXK3	PA02591729L	8673	-	11060	1099	1381	1030	718	754	1375	20.1	12
MXK3	PA02591620L	10554	-	14283	6802	7504	5690	9197	7140	21863	129.5	211.4
MXK3	PA02591279L	13579	-	17286	15189	11625	13200	15887	32106	41273	262.2	499.4
MXK3	PA02591678L	16972	-	20761	1072	1055	1514	2357	2628	2880	21	40.3
MXK3	PA02591715L	19832	-	24175	3067	1359	3056	4777	5157	8815	46.4	101.7
MXK3	PA02591861L	23504	-	27278	634	553	644	922	1007	1496	9	15.3
MXK3	PA02591675L	25686	-	28658	986	1214	1408	2553	2872	3734	20.7	47.6
MXK3	PA02591647L	27338	-	30268	1392	1873	1702	2131	2375	2370	29.8	34.8
MXK3	PA02591170L	30097	-	33312	402	422	369	364	222	586	4.7	2.6
MXK3	PA02591561L	32847	-	35852	321	383	339	346	365	432	3.7	2.4
MXK3	PA02591630L	35771	-	39285	1233	1849	1466	1674	1355	2212	27	25.5
MXK3	PA02591341L	38572	-	41101	200	273	208	276	183	367	1.3	0.6
MXK3	PA02591114L	40654	-	43662	3438	3719	3995	2652	2918	3224	70.8	45.6
MXK3	PA02591450L	43242	-	46424	1421	2039	1467	2258	1743	2110	29.5	30.5
MXK3	PA02591306L	46067	-	49597	2544	3765	1160	2500	2240	1914	46.4	33.5
MXK3	PA02591471L	49154	-	52006	5756	8511	10148	13069	3082	10434	158.8	145.9
MXK3	PA02590825	51746	-	52703	802	749	709	542	1095	1346	11.8	12.8

ゲノム生物学的手法による植物のリン酸応答機構に関する研究

親クローン		親クローン内のゲノム 断片位置		コントロール区			低温処理区			標準化シグナル値		
				Exp1	Exp2	Exp3	Exp1	Exp2	Exp3	コントロール区	低温処理区	
MXK3	PA02590779	52429	-	53059	419	477	581	485	611	904	6.6	7.3
MXK3	PA02591243L	52922	-	56413	1946	2545	1340	1212	2524	2557	35.5	31.5
MXK3	PA02591619L	54475	-	58000	2049	1919	724	1195	2367	3106	27.9	33.6
MXK3	PA02591249L	57855	-	60974	310	332	326	511	419	513	3.2	4.1
MXK3	PA02591240L	60750	-	63464	849	987	889	935	394	768	14.9	7.8
MXK3	PA02591710L	63037	-	66971	363	317	266	628	364	372	3.1	3.7
MXK3	PA02591833L	66036	-	69301	2626	1979	2966	2421	3059	3493	47	46.6
MXK3	PA02591357L	68657	-	71939	7806	4502	8945	5056	5450	9720	137.8	110.1
MXK3	PA02591716L	70973	-	74184	1005	1038	1261	973	1097	1954	18.7	18.7
MXK3	PA02591853L	73592	-	77201	609	696	388	595	436	491	8	4.6
MXK3	PA02591632L	76064	-	79498	190	217	171	208	246	281	0.6	0.1
MXK3	PA02591192L	78782	-	81494	837	1190	1218	1552	761	1575	18.3	17.9
MSG15	PA01561387L	1	-	1722	1829	3042	906	3134	3205	3177	35.1	49.7
MSG15	PA01561341L	326	-	2760	172	278	204	224	255	271	1.2	0.2
MSG15	PA01561771L	2522	-	4655	156	170	161	244	249	236	0.05	0.1
MSG15	PA01561625L	3972	-	5992	292	347	324	236	500	340	3.2	2.1
MSG15	PA01561777L	5117	-	7528	774	2355	2045	1188	2556	2399	31.1	30.6
MSG15	PA01561683L	7444	-	10524	383	499	192	252	359	503	3.9	2.3
MSG15	PA01561713L	10227	-	13550	1446	1226	1168	1126	956	581	22.3	11
MSG15	PA01561413L	12791	-	15545	6943	5950	2853	4193	1254	4390	101.3	51.5
MSG15	PA01561822L	15335	-	18474	713	769	629	912	1028	738	10.8	11.1
MSG15	PA01561784L	16688	-	19107	3122	4426	4497	3779	6742	6900	76.7	94.2
MSG15	PA01561505L	18868	-	21606	243	278	333	416	430	697	2.5	4.7
MSG15	PA01561383L	21480	-	24350	1587	2452	803	1879	2210	2491	28.9	33.1
MSG15	PA01561559L	23032	-	25499	1588	3570	2760	2704	3226	1297	49.3	36.8
MSG15	PA01561742L	24910	-	27830	209	218	217	272	305	309	1.1	1
MSG15	PA01561643L	27581	-	30358	183	253	171	213	299	332	0.8	0.7
MSG15	PA01561527L	29094	-	31586	658	727	714	759	984	404	10.7	8.1
MSG15	PA01560140L	31204	-	32220	191	217	327	284	344	332	1.7	1.4
MSG15	PA01561803L	31878	-	35057	1675	3114	3934	4406	4886	5809	54.7	81.2
MSG15	PA01561392L	34768	-	37624	1138	1363	708	1467	1278	1577	18.1	20.4
MSG15	PA01561314L	36895	-	39365	93	207	215	188	235	238	0.2	-0.3
MSG15	PA01561322L	38195	-	40419	273	267	219	194	297	356	1.9	0.8
MSG15	PA01561689L	39681	-	41736	203	303	186	286	317	281	1.4	1
MSG15	PA01561687L	41224	-	43020	383	573	845	602	817	1192	8.8	10.7
MSG15	PA01561306L	42870	-	45582	142	158	148	146	202	207	-0.2	-0.9
MSG15	PA01561514L	44949	-	46662	266	179	333	233	286	443	2	1.4
MSG15	PA01561465L	46067	-	49714	180	185	153	208	249	306	0.2	0.3
MSG15	PA01561669L	49495	-	52905	223	196	196	237	255	238	0.9	0.1
MSG15	PA01561543L	52641	-	55294	4587	6282	7267	5083	9169	10304	117.1	134.5
MSG15	PA01561667L	54947	-	57610	3518	3280	3849	2062	3149	4988	67.4	53.5
MSG15	PA01561506L	56592	-	59921	281	240	213	697	805	347	1.7	6.4
MSG15	PA01561342L	59586	-	61837	181	205	142	209	238	211	0.3	-0.3
MSG15	pa01561626L	61667	-	63969	167	273	219	313	505	438	1.2	3.1
MSG15	PA01561327L	63869	-	66479	433	534	518	485	497	742	6.7	5.7
MSG15	PA01561825L	65905	-	68599	459	449	440	354	352	486	5.8	2.7
MSG15	PA01561615L	68295	-	70880	173	157	193	250	220	260	0.3	0.1
MSG15	PA01561303L	70513	-	72735	417	447	610	507	549	805	6.6	6.5
MSG15	PA01561670L	72565	-	75624	1224	1382	1877	1338	955	2110	26.5	20.8
MSG15	PA01561376L	75085	-	78550	230	387	327	900	758	276	3.1	6.9
MSG15	PA01561801L	78497	-	80257	174	195	209	187	289	312	0.6	0.4
MSG15	pa01561024	79945	-	80828	223	190	228	228	250	309	1.1	0.4
MSG15	pa01561644L	80552	-	81347	161	231	206	238	233	276	0.8	0.2

親クローン		親クローン内のゲノム 断片位置		コントロール区			低温処理区			標準化シグナル値	
				Exp1	Exp2	Exp3	Exp1	Exp2	Exp3	コントロール区	低温処理区
MRB17	PA01941279L	1	- 2762	251	332	317	408	449	481	2.8	3.5
MRB17	PA01941124L	1081	- 4487	239	229	260	280	402	428	1.6	2.2
MRB17	PA01941273L	3902	- 7223	219	254	222	274	285	471	1.4	1.8
MRB17	PA01941361L	6827	- 8879	256	326	258	313	394	432	2.4	2.4
MRB17	PA01941458L	10276	- 14076	431	518	295	385	343	519	5.1	3
MRB17	PA01941192L	12935	- 16294	337	419	672	496	691	739	6.3	6.8
MRB17	PA01941554L	15438	- 18558	111	170	185	224	221	297	-0.1	0.2
MRB17	PA01941471L	16957	- 20174	347	482	440	335	544	555	5.2	4.1
MRB17	PA01941726L	19896	- 23737	1253	2111	2020	1892	1756	2591	32.5	31.2
MRB17	PA01941367L	21808	- 26501	3702	3337	4671	2491	2529	4447	74.5	49.4
MRB17	PA01941671L	24634	- 30094	120	154	162	188	174	235	-0.3	-0.6
MRB17	PA01941414L	28890	- 31827	210	221	287	226	283	287	1.6	0.5
MRB17	PA01941289L	30865	- 33623	163	181	190	264	233	291	0.4	0.4
MRB17	PA01941607L	32468	- 35585	299	230	393	293	399	718	2.9	3.9
MRB17	PA01941319L	34278	- 37112	235	247	208	237	321	285	1.4	0.7
MRB17	PA01941157L	36737	- 40158	591	385	356	275	1636	2529	5.6	21
MRB17	PA01941642L	39730	- 42805	346	453	1012	631	1008	968	8.8	10.7
MRB17	PA01941469L	42097	- 45247	148	158	179	199	396	226	0.04	0.6
MRB17	PA01941327L	44340	- 48002	437	351	427	549	468	702	4.9	5.7
MRB17	PA01941167L	47609	- 50142	1155	1516	952	1124	767	730	20.8	10.8
MRB17	PA01941228L	48502	- 51059	10239	13467	6681	6111	1714	2530	198.4	54.4
MRB17	PA01941741L	50495	- 53093	476	699	723	660	1468	1536	9.4	16.6
MRB17	PA01941246L	52821	- 56167	174	262	316	318	409	520	1.8	3
MRB17	PA01941159L	55072	- 58123	199	232	275	246	323	355	1.5	1.2
MRB17	PA01941412L	57897	- 60668	2641	3116	4069	3576	4769	2307	62	56.1
MRB17	PA01941710L	60134	- 63501	456	1585	1355	691	1291	763	19.3	11.5
MRB17	PA01941491L	62801	- 65286	3240	4529	903	4622	4869	5674	54.3	81.5
MRB17	PA01941520L	64508	- 68242	950	1562	956	1742	1822	1709	19.8	25.7
MRB17	PA01941401L	67999	- 70644	261	313	400	257	391	575	3.3	2.9
MRB17	PA01941537L	69643	- 72561	528	531	557	538	481	406	7.5	4
MRB17	PA01941487L	72059	- 75654	261	311	284	214	414	416	2.5	1.9
MRB17	PA01941456L	73702	- 75744	130	234	161	217	210	409	0.3	0.7
MCK7	PA02461474L	1	- 2964	3511	4968	1727	4627	4754	4960	64.5	76.9
MCK7	PA02461719L	1609	- 4779	4131	4200	3590	4363	3888	6623	75.9	79.9
MCK7	PA02461433L	4406	- 7098	288	518	333	466	629	1044	4.4	8
MCK7	PA02461733L	6807	- 9360	272	489	1175	1211	1105	1036	9.7	14.9
MCK7	PA02461816L	8632	- 11460	10986	15510	4592	16046	11879	17489	203	252.1
MCK7	PA02461773L	11119	- 13917	391	398	416	608	648	680	4.8	6.9
MCK7	PA02461317L	13346	- 16710	142	256	217	250	276	484	0.9	1.7
MCK7	PA02461533L	16409	- 19163	244	261	341	369	386	497	2.4	3
MCK7	PA02461315L	18450	- 21048	282	277	431	369	398	1551	3.4	9.1
MCK7	PA02461473L	20600	- 23837	470	767	319	824	855	961	7.1	10.9
MCK7	PA02461687L	22914	- 26412	1023	2437	2664	695	1739	1844	37.4	20.1
MCK7	PA02461958L	25492	- 28735	1048	1248	1140	962	873	1383	19.6	14.1
MCK7	PA02461718L	28472	- 31601	1706	2095	1240	1745	2049	543	30.2	20.4
MCK7	PA02461943L	31423	- 34699	6080	6466	1997	3230	4961	5754	93.3	74.6
MCK7	PA02461313L	34152	- 37442	1022	1351	944	547	321	677	18.8	4.7
MCK7	PA02461340L	36731	- 39325	519	442	376	627	958	809	5.7	9.5
MCK7	PA02461923L	39120	- 41831	468	1243	1279	865	1708	2630	16.6	25.3
MCK7	PA02461417L	41453	- 44119	4027	3146	3925	5603	4999	4050	70.4	78.6
MCK7	PA02461708L	43885	- 47493	2119	4874	1374	3681	3977	3747	52.3	60.3
MCK7	PA02461732L	46955	- 49857	669	558	827	553	492	1044	10.4	7.8
MCK7	PA02461757L	49719	- 52927	283	969	384	189	422	491	7.7	2.2
MCK7	PA02461536L	52780	- 56604	4465	4747	5727	3591	4374	7777	95.9	84.8

ゲノム生物学的手法による植物のリン酸応答機構に関する研究

親クローン	親クローン内のゲノム 断片位置			コントロール区			低温処理区			標準化シグナル値	
				Exp1	Exp2	Exp3	Exp1	Exp2	Exp3	コントロール区	低温処理区
MCK7	PA02461611L	55889	- 58778	269	426	266	198	314	265	3.2	0.4
MCK7	PA02461423L	58589	- 61732	1410	2038	1172	1432	1818	1411	27.5	22.3
MCK7	PA02460690	61808	- 63227	108	194	236	176	252	362	0.4	0.4
MCK7	PA02461343L	62919	- 66262	143	156	261	265	305	261	0.5	0.7
MCK7	PA02461815L	65577	- 68755	393	386	424	772	934	858	4.8	10.5
MCK7	PA02461704L	68114	- 70779	1411	2134	1325	2562	3070	4061	29.1	50.7
MCK7	PA02461401L	70583	- 73692	1153	1635	1156	2321	2921	1363	23	33.2
MCK7	PA02461683L	73416	- 75998	244	946	826	813	1013	817	10.2	10.9
MCK7	PA02460725L	75409	- 78173	517	1036	702	766	1239	1181	11.8	14
MCK7	PA02461767L	75414	- 80012	183	235	520	632	1136	1009	3	11.6
MCK7	PA02461359L	79712	- 82049	252	186	214	205	216	262	1.1	-0.2
MCK7	PA02461770L	81583	- 85319	211	497	411	318	391	543	4.2	3
MCK7	PA02461889L	84648	- 87090	244	277	298	287	285	390	2.2	1.4
MDC12	PA00901553L	132	- 3069	308	670	877	748	760	1174	9.1	11.1
MDC12	PA00901366L	2657	- 5717	1415	2981	2189	2067	2442	1510	40.5	29.9
MDC12	PA00901284L	5331	- 8617	659	689	2037	945	1940	3130	19.3	29.9
MDC12	PA00901384L	8204	- 11273	610	981	250	626	650	986	9	8.7
MDC12	PA00901175L	11112	- 14987	184	204	221	219	353	535	0.9	2.2
MDC12	PA00901452L	14530	- 17568	213	222	406	300	425	441	2.4	2.6
MDC12	PA00901433L	17003	- 20730	431	467	498	551	513	393	6.1	4.2
MDC12	PA00901373L	19637	- 23216	299	559	211	449	314	712	3.9	4.3
MDC12	PA00901542L	22487	- 25956	1114	1112	859	759	1468	1407	17.3	16.5
MDC12	PA00901423L	25549	- 28687	1941	2651	1577	3387	3291	2403	37.7	47.2
MDC12	PA00901323L	28071	- 31304	1351	1353	1635	2292	2828	1977	25.6	36
MDC12	PA00901182L	31040	- 34719	430	721	803	753	1261	1647	9.8	16.6
MDC12	PA00901535L	34214	- 37312	235	293	299	392	424	502	2.3	3.4
MDC12	PA00901451L	36842	- 39897	776	732	608	635	923	1766	10.8	14.7
MDC12	PA00901623L	39617	- 42696	386	357	572	1061	3063	3394	5.5	38.4
MDC12	PA00901559L	42616	- 45458	284	245	263	694	742	1607	2.1	13.1
MDC12	PA00901654L	44236	- 48303	242	312	279	440	457	680	2.3	4.9
MDC12	PA00901474L	47878	- 51603	1975	4896	5440	2332	3896	6230	78.5	66.2
MDC12	PA00901213L	51210	- 54003	404	327	237	329	280	268	3.2	0.9
MDC12	PA00901573L	53116	- 55990	263	329	296	383	366	372	2.7	2.3
MDC12	PA00901511L	55527	- 59281	4243	4426	3067	1561	1751	2170	74.7	26.9
MDC12	PA00901253L	58192	- 62426	1036	1375	796	966	1348	1986	18.1	20.2
MDC12	PA00901224L	60612	- 65070	94	171	118	179	266	177	-0.6	-0.5
MDC12	PA00901243L	63972	- 67799	213	383	332	284	403	467	3	2.5
MDC12	PA00901185L	66338	- 70461	278	444	368	313	363	589	4	3.1
MDC12	PA00901283L	69986	- 72866	786	627	508	704	356	763	9.6	6.3
MDC12	PA00901376L	72496	- 75529	476	795	265	521	695	764	7	7.2
MDC12	PA00901680L	74833	- 78492	639	835	540	484	800	820	10.2	7.9
MDC12	PA00901508L	78242	- 81653	2484	3491	3771	2080	3387	4574	61.5	52.6
K1F13	TA01791306L	394	- 3021	436	534	345	332	218	300	5.5	0.8
K1F13	TA01791183L	2937	- 5462	248	447	495	259	509	925	4.7	5.5
K1F13	TA01791596L	4956	- 7891	498	518	314	1040	907	1722	5.6	16.7
K1F13	TA01791158L	7704	- 10715	1611	1443	2068	467	3790	5574	30.8	51.4
K1F13	TA01791719L	9012	- 11941	1129	979	1064	1206	917	1061	17.9	13.9
K1F13	TA01791488L	11558	- 14157	266	243	237	223	246	302	1.8	0.3
K1F13	TA01791464L	13847	- 17400	145	221	184	224	256	293	0.5	0.3
K1F13	TA01791512L	16445	- 19112	158	178	183	219	179	212	0.3	-0.6
K1F13	TA01791695L	19010	- 21599	324	404	309	415	490	408	3.7	3.4
K1F13	TA01791409L	21491	- 24280	234	317	224	340	297	418	2	1.9
K1F13	TA01791361L	23611	- 26862	412	603	441	507	549	1060	6.5	7.9
K1F13	TA01791206L	26564	- 29855	501	791	640	910	820	1227	9.6	12.7
K1F13	TA01791435L	29336	- 32577	1081	1344	568	1428	1261	1569	16.7	20
K1F13	TA01791453L	31977	- 35304	824	707	369	1032	668	1243	9.4	12.6
K1F13	TA01791495L	34436	- 37864	1263	1810	1540	1216	1185	829	27.4	14.2
K1F13	TA01791553L	37399	- 41008	2089	2913	832	2246	2649	3294	35.5	42.2

親クローン	親クローン内のゲノム 断片位置	コントロール区			低温処理区			標準化シグナル値				
		Exp1	Exp2	Exp3	Exp1	Exp2	Exp3	コントロール区	低温処理区			
K1F13	TA01791724L	39327	-	41452	712	600	452	324	508	854	8.5	5.5
K1F13	TA01791277L	41105	-	43705	1878	1444	2112	1495	2498	3467	32.9	38.1
K1F13	TA01791223L	41642	-	44649	1373	1295	1203	1483	1464	2181	22.5	24.9
K1F13	TA01791584L	43989	-	47322	1503	1423	1191	2001	2168	2779	24.1	35.2
K1F13	TA01791470L	46981	-	50072	1037	1027	2506	2697	3321	3990	27.1	52.4
K1F13	TA01791166L	49931	-	53112	189	234	353	350	285	425	2	2
K1F13	TA01791187L	52676	-	56315	495	551	410	501	486	473	6.5	4.2
K1F13	TA01791633L	56020	-	59156	34329	45084	35523	16032	31828	25428	759.2	409.3
K1F13	TA01791156L	58664	-	61713	21988	73722	76362	24928	51402	60685	1138.2	768.7
K1F13	TA01791102L	61524	-	64940	437	488	558	479	555	607	6.6	5.2
K1F13	TA01791672L	64716	-	67562	129	213	231	313	306	334	0.6	1.4
K1F13	TA01791538L	66732	-	69943	163	162	200	231	208	340	0.3	0.4
K1F13	TA01791136L	69590	-	72269	143	291	216	174	206	312	1.1	-0.1
K1F13	TA01791618L	72058	-	74637	179	206	214	245	223	289	0.8	0.3
K1F13	TA01791458L	74339	-	77087	326	268	377	395	563	719	3.3	5.4
K1F13	TA01791353L	78669	-	81301	401	264	590	563	526	749	5.1	6.4
K1F13	TA01791417L	80151	-	82784	262	280	288	281	380	640	2.3	3.3

表3. 新規遺伝子発現の確認を行ったゲノムクローン

50 個のゲノム小断片クローンについて制限酵素処理を行い、遺伝子(AGI コード)を単独で含む断片を作製した。ピンク色のゲノム小断片クローンは、サザン法により新規遺伝子発現が確認された領域を意味する。

Parental clone	Fragment	Restriction enzyme	Putative identity	AGI-code
MWD22	PA02941178L	<i>Ava</i> I	similar to unknown protein (gb AAD46013.1)	At5g51150
	PA02941448L	<i>Xho</i> I	similar to unknown protein (pir T00623)	At5g51180
	PA02941104L	<i>Fok</i> I	similar to unknown protein(gb AAD29711.1)	At5g51230
	PA02941582L	<i>Nsp</i> V	contains similarity to fertilization-independent seed 2 protein	At5g51240
	PA02941212L	<i>Acc</i> II	AP2 domain transcription factor-like protein	At5g51990
MSG15	PA01561784L	<i>Fok</i> I	AP2 domain transcription factor-like protein	At5g51990
	PA01561383L	<i>Nco</i> I	importin alpha subunit	At5g52000
	PA01561327L	<i>Alu</i> I	unknown protein	At5g52070
	PA01561670L	<i>Mva</i> I	similar to unknown protein (pir S76150)	At5g52110
MNC6	PA01831778L	<i>Fok</i> I	isp4 protein	At5g53510
	PA01831746L	<i>Xba</i> I	isp4 protein	At5g53510
	PA01831440L	<i>Xba</i> I	heat shock transcription factor HSF30-like protein	At5g53640
	PA01831875L	<i>Fok</i> I	heat shock transcription factor HSF30-like protein	At5g53640
	PA01831455L	<i>Hind</i> III	similar to unknown protein (gb AAB63610.1)	At5g53660
MRB17	PA01941458L	<i>Hind</i> III	contains similarity to pre-mRNA splicing factor	At5g54520
	PA01941192L	<i>Hind</i> III	contains similarity to pre-mRNA splicing factor	At5g54520
	PA01941741L	<i>Afa</i> I	ankyrin-repeat-containing protein like	At5g54610
MDA7	PA01260901L	<i>Apa</i> LI, <i>Ava</i> I	similar to unknown protein (pir T05056)	At5g56060
	PA01261851L	<i>Cfr</i> 10I, <i>Hae</i> III	unknown protein	At5g56100
	PA01261613L	<i>Bam</i> HI	Atmyb103(gb AAD40692.1)	At5g56110
MCK7	PA02461473L	<i>Hind</i> III	contains similarity to unknown protein (gb AAF35955.1)	At5g58190
	PA02461417L	<i>Hae</i> III	unknown protein	At5g58280
	PA02461536L	<i>Hind</i> III	similar to unknown protein(gb AAF63134.1)	At5g58340
	PA02461704L	<i>Hae</i> III, <i>Xba</i> I	contains similarity to GTP-binding protein CGPA	At5g58370
	PA02461815L	<i>Hae</i> III, <i>Hind</i> III	contains similarity to GTP-binding protein CGPA	At5g58370
	PA02461704L	<i>Hae</i> III, <i>Xba</i> I	serine/threonine protein kinase	At5g58380
	PA02461401L	<i>Msp</i> I	serine/threonine protein kinase	At5g58380
			peroxidase	At5g58390
	PA02461683L	<i>Pvu</i> II	peroxidase	At5g58390
MNC17	PA02171278L	<i>Bsp</i> 1286I, <i>Hin</i> fI	contains similarity to serin protease	At5g59110
	PA02171226L	<i>Xho</i> I	serine protease-like protein	At5g59130
	PA02171114L	<i>Hae</i> III	serine/threonine protein kinase-like protein	At5g59260
	PA02171160L	<i>Acc</i> I	receptor-like protein kinase-like protein	At5g59270
	PA02171160L	<i>Spe</i> I	unknown protein	At5g59280
	PA02171425L	<i>Aat</i> II	unknown protein	At5g59280
MDC12	PA00901366L	<i>Clal</i> , <i>Spe</i> I	unknown protein	At5g63060
	PA00901433L	<i>Fok</i> I	similar to unknown protein(gb AAB60912.1)	At5g63090
	PA00901474L	<i>Sac</i> II	lipase/acylhydrolase-like protein	At5g63170
	PA00901376L	<i>Eco</i> 57I	contains similarity to NOI protein	At5g63270
		<i>Aci</i> I	contains similarity to NOI protein	At5g63270
	PA00901508L	<i>Clal</i> , <i>Nsp</i> V	unknown protein	At5g63300
MXK3	PA02591620L	<i>Hinc</i> II	similar to unknown protein(gb AAF03448.1)	At5g64810
		<i>Pst</i> I, <i>Pvu</i> II	unknown protein	At5g64820
	PA02591678L	<i>Msp</i> I, <i>Xho</i> I	similar to unknown protein(emb CAB61744.1)	At5g64850
	PA02591114L	<i>Hae</i> III	unknown protein	At5g64930
	PA02591471L	<i>Eco</i> RV	similar to unknown protein(emb CAB62602.1)	At5g64950
	PA02591240L	<i>Clal</i> , <i>Spe</i> I	GTP binding protein-like	At5g64990
	PA02591716L	<i>Fba</i> I, <i>Pst</i> I	unknown protein	At5g65030
	PA02591853L	<i>Tth</i> HB8I	unknown protein	At5g65030
			similar to unknown protein(gb AAF17687.1)	At5g65040
			similar to unknown protein(emb CAB62624.1)	At5g66370
K1F13	TA01791306L	<i>Acc</i> II, <i>Eco</i> T141	contains similarity to peroxysomal membrane carrier protein	At5g66380
	TA01791453L	<i>Xba</i> I	similar to unknown protein(pir T08412)	At5g66480
		<i>Bal</i> I, <i>Eco</i> RV	contains similarity to selenium-binding protein	At5g66500
	TA01791470L	<i>Dra</i> I	unknown protein	At5g66540
	TA01791102L	<i>Eco</i> RV	strong similar to unknown protein(pir T02421)	At5g66600

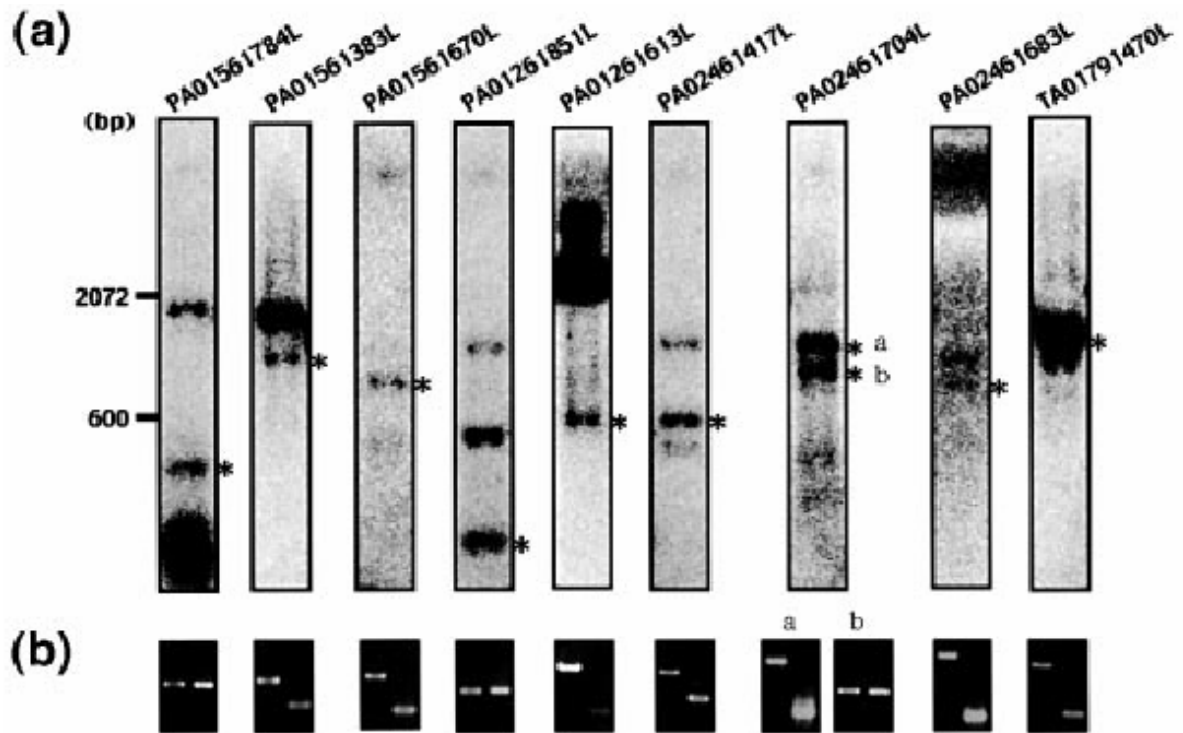


図 3.ゲノム DNA アレイから見いだされた新規遺伝子発現の確認

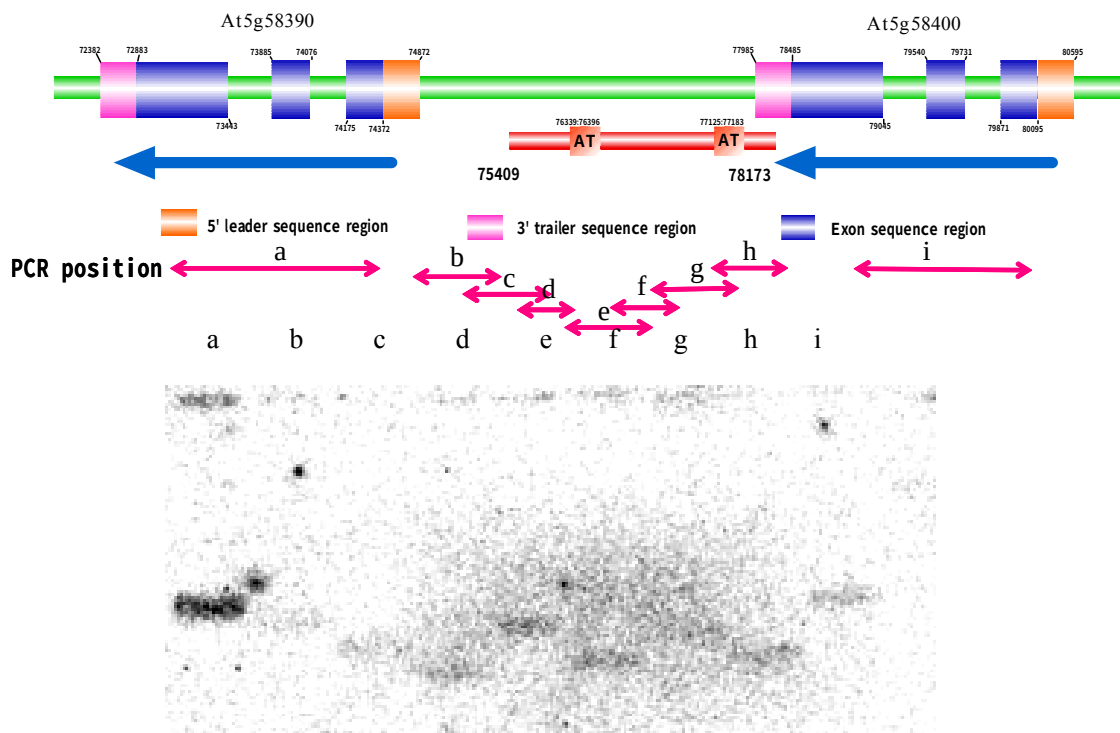
(a) 新規遺伝子発現を確認するため、制限酵素処理により遺伝子を単独で含む断片を作製し、サザン法によりシロイヌナズナの葉から調製した mRNA の逆転写物をハイブリダイゼーションした。

*印のバンドは新規な遺伝子の発現箇所。

(b) 新規発現遺伝子特異的プライマーによる RT-PCR を行った。左がコントロール DNA、右が poly (A) + mRNA 区。

各産物のサイズは次のとおり (506,506 bp:At5g51990、451,264 bp:At5g52000、485,226 bp : At5g52110、344,344 bp:At5g56100、984,473 bp:At5g56110、659,41 bp:At5g58280、1621,1021 bp:At5g58370、1427,1427 bp:At5g58380、1320,951 bp:At5g58390、653,259 bp:At5g66540)

(A)



(B)

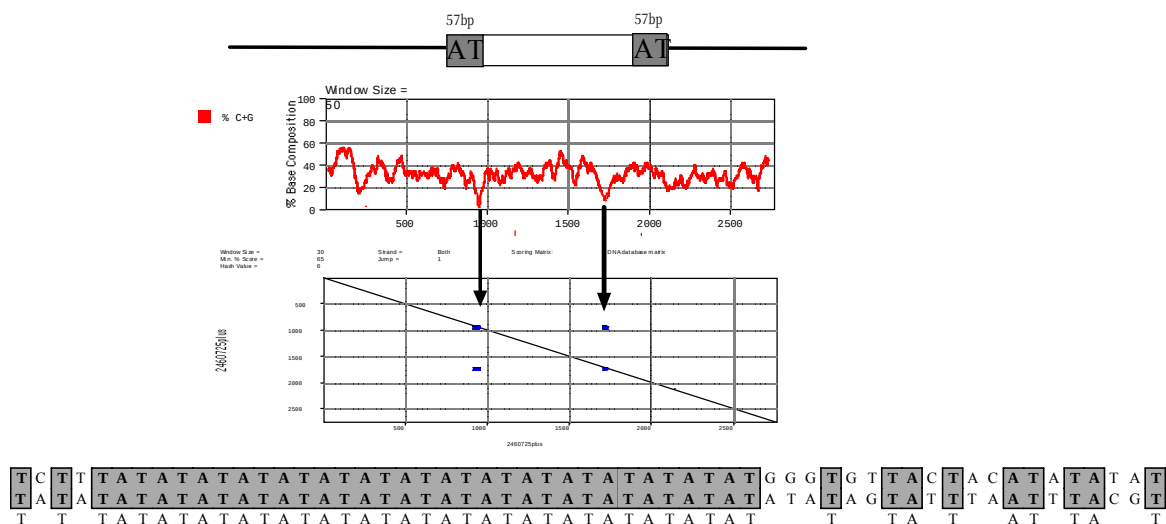


図 4. ゲノムクローン MCK7 中に見出された非遺伝子構造領域

(A) 小断片クローン PA02460725 は赤線で示した領域をカバーしている。両隣にはタンデムにペルオキシダーゼ遺伝子が存在している。PCR で増幅したゲノム断片は両矢印で示した。

(B) PA02460725 中に存在する AT リッチな 57 bp の反復配列

root

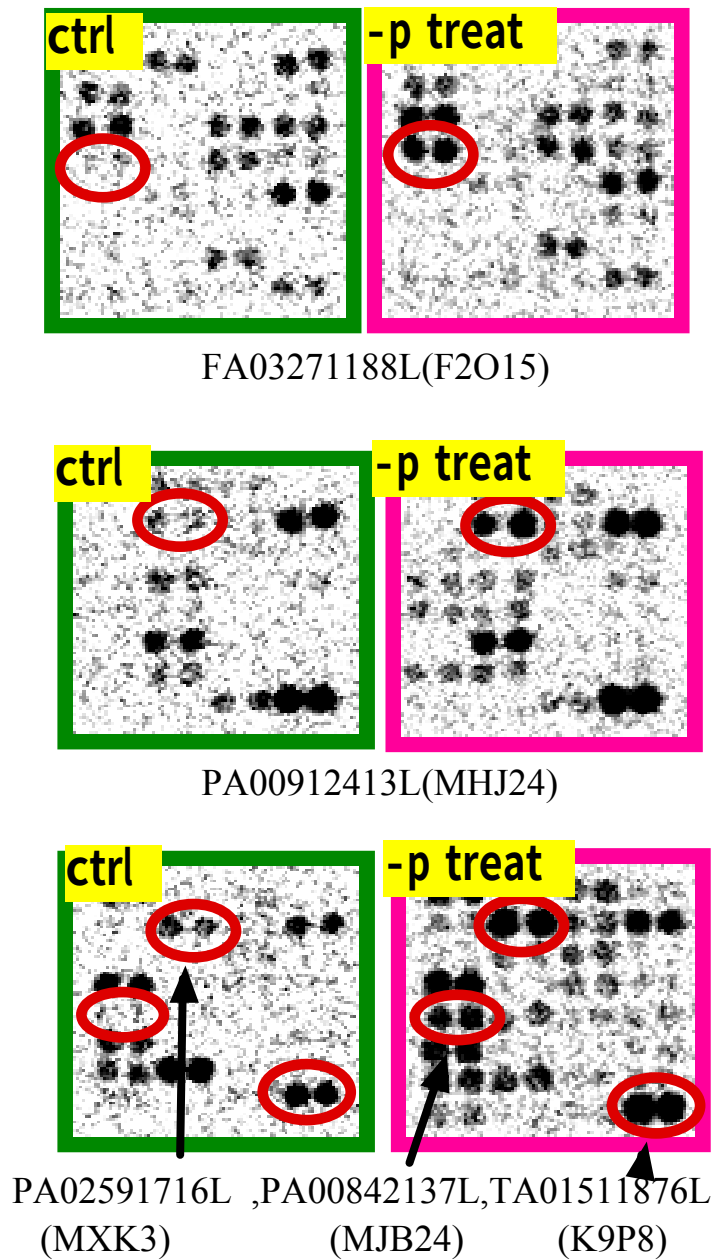


図 5. ゲノム DNA アレイによるリン酸飢餓応答解析結果 (1)根における遺伝子発現誘導領域例

MGRL 培地で 3 週間水耕栽培したシロイヌナズナをリン酸のみ除去した培地に移し 2 週間栽培した。地上部と根とに分けて採取し、mRNA を抽出してゲノム DNA アレイにハイブリダイゼーションした。緑色の囲みはコントロール区、ピンク色の囲みはリン酸飢餓処理区を示す。赤い楕円で囲んだスポットがリン酸飢餓に応答し遺伝子発現誘導の起きた小断片クローンを示す。各スポットは 2 反復している。

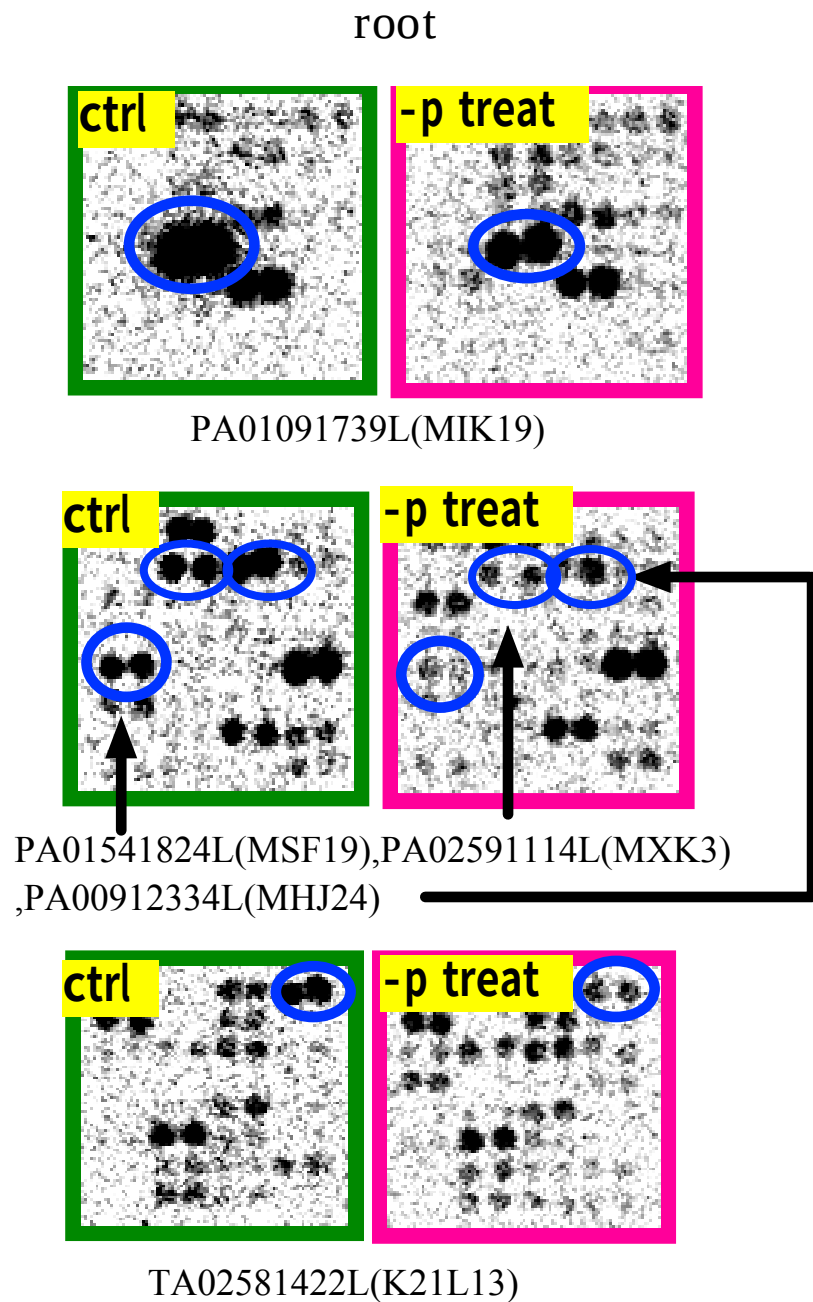
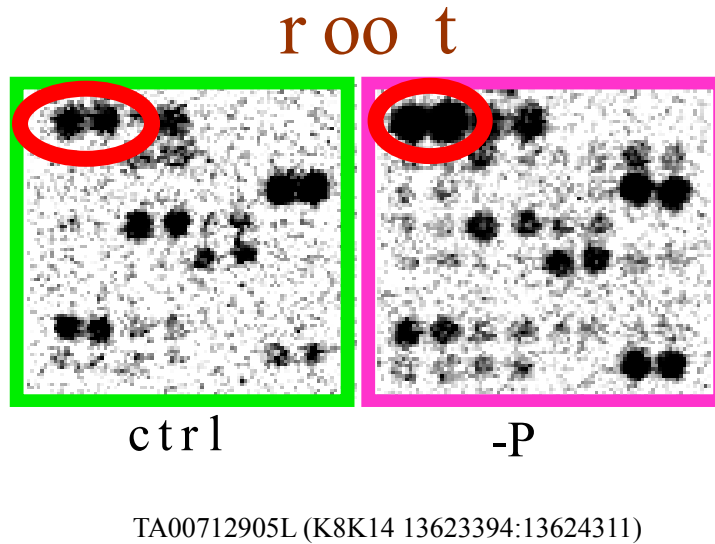


図 6. ゲノム DNA アレイによるリン酸飢餓応答解析結果 (2)根における遺伝子発現抑制領域例

MGRL 培地で 3 週間水耕栽培したシロイヌナズナをリン酸のみ除去した培地に移し 2 週間栽培した。地上部と根とに分けて採取し、mRNA を抽出してゲノム DNA アレイにハイブリダイゼーションした。緑色の囲みはコントロール区、ピンク色の囲みはリン酸飢餓処理区を示す。青い楕円で囲んだスポットがリン酸飢餓に応答し遺伝子発現が抑制したブリージクローンを示す。各スポットは 2 反復している。

(A)



(B)



図 7. リン酸飢餓処理により発現誘導された Myb 様転写因子のノーザン解析

(A) 小断片クローン TA00712905L はリン酸飢餓処理区での転写量の変化がコントロール区に対して 5 倍以上を示した。このゲノム領域には *Myb*-related protein 33.3KD (K8K14.2) が存在していた。

(B) K8K14.2 cDNA をプローブとしてリン酸飢餓処理した植物体の根から抽出した全 RNA に対してノーザンブロットハイブリダイゼーションを行った。この結果、K8K14.2 遺伝子はゲノム DNA アレイと同様にリン酸欠乏処理に対して誘導されていた。

表 4. ゲノム DNA アレイにより見出された組織別リン酸飢餓応答領域

転写量の変化 は 2 倍以上、 は 1/2 倍以下

parental clone		ratio		parental clone		ratio	
nam	bw clone nam	leal:-P/cont	root:-P/cont	nam	bw clone nam	leal:-P/cont	root:-P/cont
K2I5	TA01421255L	1.38	2.88	F02015	FA03271188L	3.34	8.12
K2I5	TA01421555L	0.62	0.45	F02015	FA03271103L	0.56	0.30
K9P8	TA01511832L	3.64	4.14	MMN10	PA01801562L	3.22	0.24
K9P8	TA01511876L	1.22	2.92	MMN10	PA01801668L	0.28	0.43
K6A12	TA02681224L	0.87	0.25	MMN10	PA01801155L	2.37	1.02
MXI22	PA01461802L	0.22	0.57	MMN10	PA01801249L	0.55	0.48
MXI22	PA01461303L	1.38	3.87	MMN10	PA01801328L	1.20	3.36
MXI22	PA01461833L	1.03	2.87	MUF9	PA01281409L	2.13	3.95
K3K7	TA02051821L	2.55	0.55	MUF9	PA01281165L	0.22	0.62
K3K7	TA02051788L	2.11	3.27	MUF9	PA01281533L	0.47	0.39
K3K7	TA02051503L	0.28	2.63	MAE1	PA01911256L	1.41	2.21
MSG15	PA01561413L	0.44	0.42	MAE1	PA01911615L	1.48	3.78
MSG15	PA01561543L	1.22	2.95	MSL3	PA01001545L	0.39	0.69
K24W7	TA02661115L	2.14	0.09	MFB13	PA01021290L	1.90	2.03
F06N07	FA032401089L	0.34	0.62	MFB13	PA01021487L	0.39	0.82
F06N07	FA03241326L	0.33	2.14	MFB13	PA01021377L	4.52	0.94
F06N07	FA032401133L	2.96	1.31	K1I1J9	TA01640860L	3.10	0.36
F06N07	FA032400983L	0.97	0.37	K1I1J9	TA01641146L	0.78	0.39
MXC20	PA00800110L	1.03	2.99	K22G18	TA02891193L	1.62	2.21
MXC20	PA00800445L	0.67	0.31	MTG10	PA01861142L	0.45	0.45
MFB8	PA03531637L	0.51	0.38	MMI9	PA02261342L	0.22	0.64
MYN8	PA02421341L	8.29	1.03	MMI9	PA02261424L	3.09	0.51
MYN8	PA02421703L	5.32	1.68	MRG21	PA02651703L	5.37	3.34
MNC6	PA01831265L	0.42	0.94	MQB2	PA01041187L	1.02	0.43
MNC6	PA01831431L	0.38	0.28	MQB2	PA01041245L	0.43	0.27
MNC6	PA01831857L	0.42	1.08	MQB2	PA01041460L	5.64	0.20
K19P17	TA00672329L	6.01	0.66	MQB2	PA01041369L	0.65	2.22
MPJ23	PA02101649L	0.70	0.29	MQB2	PA01041409L	0.29	0.46
K18G13	TA01591689L	3.36	0.84	MBM17	PA02341361L	3.52	3.22
MDK4	PA01391124L	3.73	0.88	MBM17	PA02341537L	0.65	0.25
MDK4	PA01391403L	4.26	1.08	MBM17	PA02341163L	3.40	1.25
F24B18	FA03911706L	0.41	2.19	MBM17	PA02341562L	1.17	0.34
F24B18	FA03911337L	0.25	0.11	MHJ24	PA00912334L	3.26	0.25
F24B18	FA03911276L	0.36	0.87	MHJ24	PA00912367L	1.26	0.48
K13P22	TA02191523L	0.47	1.66	MHJ24	PA00912323L	1.07	2.27
MC015	PA01251204L	6.14	1.53	MHJ24	PA00912413L	0.63	5.75
MTE17	PA01601682L	1.27	0.30	MHJ24	PA00912258L	3.38	2.41
MDF20	PA01081652L	6.87	2.13	T12B11	UA03430302L	1.24	0.46
MYN21	PA03901332L	0.24	0.41	MXX3	PA02591279L	0.34	1.55
MDA7	PA01261992L	3.51	6.36	MXX3	PA02591678L	0.30	0.69
MDA7	PA01261955L	5.03	5.64	MXX3	PA02591647L	1.20	2.26
MDA7	PA01261973L	0.90	4.92	MXX3	PA02591114L	2.87	0.24
MDA7	PA01261432L	0.12	2.10	MXX3	PA02591716L	2.39	5.20
MDA7	PA01261616L	1.13	2.04	F15005	FA03830461L	0.45	0.27
MDA7	PA01261674L	1.46	2.35	MQN23	PA01621228L	1.35	0.39
MDA7	PA01261856L	0.28	0.73	MQN23	PA01621356L	1.56	0.49
K24C02	TA03170993L	0.43	0.77	K21L13	TA02581644L	2.53	1.10
K24C01	TA03171284L	0.34	0.92	K21L13	TA02581151L	1.72	2.30
MXX23	PA04060331L	0.27	0.64	K21L13	TA02581628L	0.62	2.43
MCD7	PA01011383L	3.76	1.61	K21L13	TA02581593L	1.55	2.79
MCD7	PA01011155L	2.05	0.38	MPA24	PA01121386L	1.01	2.94
MKN22	PA02071476L	1.42	3.86	MPA24	PA01121339L	1.14	0.37
MKN22	PA02071295L	1.25	0.42	K14B20	TA02491278L	0.25	0.30
Mik19	PA01091469L	0.86	0.48	K14B20	TA02491441L	1.60	2.53
Mik19	PA01091654L	1.68	0.22	K2A18	TA01351827L	2.12	0.85
Mik19	PA01091532L	0.49	0.61	K2A18	TA01351501L	3.37	1.44
Mik19	PA01091739L	1.71	0.34	K2A18	TA01351844L	2.62	1.22
MHW17	PA00832627L	0.93	2.74	K2A18	TA01351418L	0.44	0.29
MUL3	PA00632990L	0.87	2.65	K1L20	TA02501170L	0.30	0.62
MUL3	PA00632938L	1.40	0.31	K1L20	TA02501392L	1.08	0.43
MJB24	PA00842112L	0.30	1.37	K1F13	TA01791596L	0.90	5.01
MJB24	PA00842589L	0.32	0.50	K1F13	TA01791158L	0.58	2.74
MSF19	PA01541824L	4.39	0.14	K1F13	TA01791435L	0.21	1.22
MJB24	PA00842137L	4.77	4.92	K1F13	TA01791495L	3.81	0.94
MSF19	PA01541549L	0.90	0.48	K1F13	TA01791277L	0.46	0.24
MUA2	PA00622344L	0.81	0.36	K1F13	TA01791156L	2.48	1.05
MUA2	PA00622280L	0.69	5.74	K1F13	TA01791353L	5.11	0.90
MUA2	PA00622158L	2.08	1.01	MSN2	PA02251617L	0.37	2.55
MUA2	PA00622148L	1.61	0.32	MUD21	PA01361316L	0.86	4.06
MRI1	PA01551176L	0.41	1.98	K8A10	TA03640908L	3.09	0.64
MTI20	PA01341702L	0.57	0.49	K8A10	TA03641006	1.45	0.14
K21L19	TA02851195L	0.73	0.43	K8A10	TA03641173L	0.52	0.11
MCK7	PA02461474L	0.19	0.89	K21H1	TA02671531L	0.33	2.09
MCK7	PA02461417L	3.76	0.74	K21H1	TA02671180L	2.66	0.33
MCK7	PA02461536L	3.30	2.04	K8K14	TA00712905L	2.02	5.08
MQJ2	PA03711102L	0.64	0.42	K8K14	TA00712838L	0.45	0.41
MQJ2	PA03711131L	3.22	1.79	K8K14	TA00712942L	0.61	0.49
MQJ2	PA03711271L	1.11	2.64	K8K14	TA00712983L	0.32	0.91
MZN1	PA02861509L	0.84	2.18	K8K14	TA00712987L	0.64	2.08
MZN1	PA02861265L	2.01	2.77	K8K14	TA00712642L	1.05	3.75
MZN1	PA02861663L	0.89	0.44	K8K14	TA00712765L	1.84	2.54
K19W22	TA02181404L	0.31	0.85	K8K14	TA00712727L	0.49	0.69
K19W22	TA02181301L	2.54	1.11	K9I9	TA01741136L	0.93	2.01
K18B18	TA03081458L	1.11	0.12	K9I9	TA01741561L	0.98	2.77
MNC17	PA02171395L	0.33	0.67	K9I9	TA01741877L	0.74	2.07
MNC17	PA02171367L	0.70	0.36	K9I9	TA01741629L	0.51	0.10
MNC17	PA02171125L	0.74	0.24				
MNC17	PA02171414L	0.31	1.28				

表 5.ゲノム DNA アレイによりシロイヌナズナ 5 番染色体 6.8Mb 中に見出された、非遺伝子構造領域からの
 遺伝子発現

親クローン	ゲノム小断片名	データベース検索			相対的遺伝子転写量				
		Kazusa	MIPS	EST	葉cont	葉リン欠	根cont	根リン欠	
MWJ3	PA01891617	○	○	○	0.81	0.55	2.24	2.85	transposon(pol polyprotein)
MUL3	PA00632872	○	○	○	1.35	1.89	4.63	4.59	transposon(pol polyprotein)41576-45388
MRH1	PA01551451	○	×	○	2.11	2.03	6.44	5.02	13819-14625にcannote(AV533941)
MPA24	PA01121630	○	×	○	1.70	2.36	0.56	0.93	AX557722とAY050444はMPA24.4とズレている
MNC6	PA01831862	×	×	○	1.29	1.30	2.37	0.70	annotateは無いがAV523663がhit
K18G13	TA01591485	×	×	○	1.44	1.13	3.20	1.47	AY039867がhit
MUL3	PA00632963	×	×	○	0.58	0.84	3.15	3.47	At5g57120が実際は長くて257bp重なる？
MQN23	PA01621541	×	×	○	1.14	1.41	2.11	3.15	pseudoが在る。AV548356が133bp重なる
MQN23	PA01621627	×	×	○	1.52	1.77	7.36	3.59	AI998078（これ何？）
MQN23	PA01621288	×	×	○	2.76	5.31	9.76	12.10	AV548618がAt5g65210まで延長？
MPA24	PA01121803	×	×	○	4.77	4.15	11.89	5.42	IAA9のexonが1個新たに追加(U18411)？
K8K14	TA00712843	×	×	○	0.53	0.63	1.33	2.88	K8K14.18のexonが780bp離れている？
MPA24	PA01121315	○	×	×	1.31	2.26	1.87	1.28	2個の遺伝子をかすさのみ推定している。
MQN23	PA01621566	○	×	×	0.93	0.64	2.11	2.84	MIPSではannotate無し
MQN23	PA01621512	○	×	×	1.94	1.49	8.61	6.40	MQN23.9、At5g10050？
MYN8	PA02421607	×	×	×	1.52	0.91	2.55	0.94	
K13P22	TA02191323	×	×	×	1.81	2.76	0.55	0.36	
K13P22	TA02191818	×	×	×	1.71	2.65	0.46	0.92	
MCO15	PA01251334	×	×	×	8.01	4.82	9.45	12.78	
MUL3	PA00632751	×	×	×	0.76	0.71	1.25	2.24	
MUL3	PA00632687	×	×	×	1.07	2.25	4.72	4.52	
K8A10	TA03641489	×	×	×	14.31	9.68	1.58	1.16	

データベース検索: KazusaはKAOS(現在休止中)、MIPSはMATDB、ESTはNCBIのdbESTを検索し、遺伝子注釈あるいはESTが存在した場合○とした。

：遺伝子注釈情報、EST共に手がかりの無かった領域

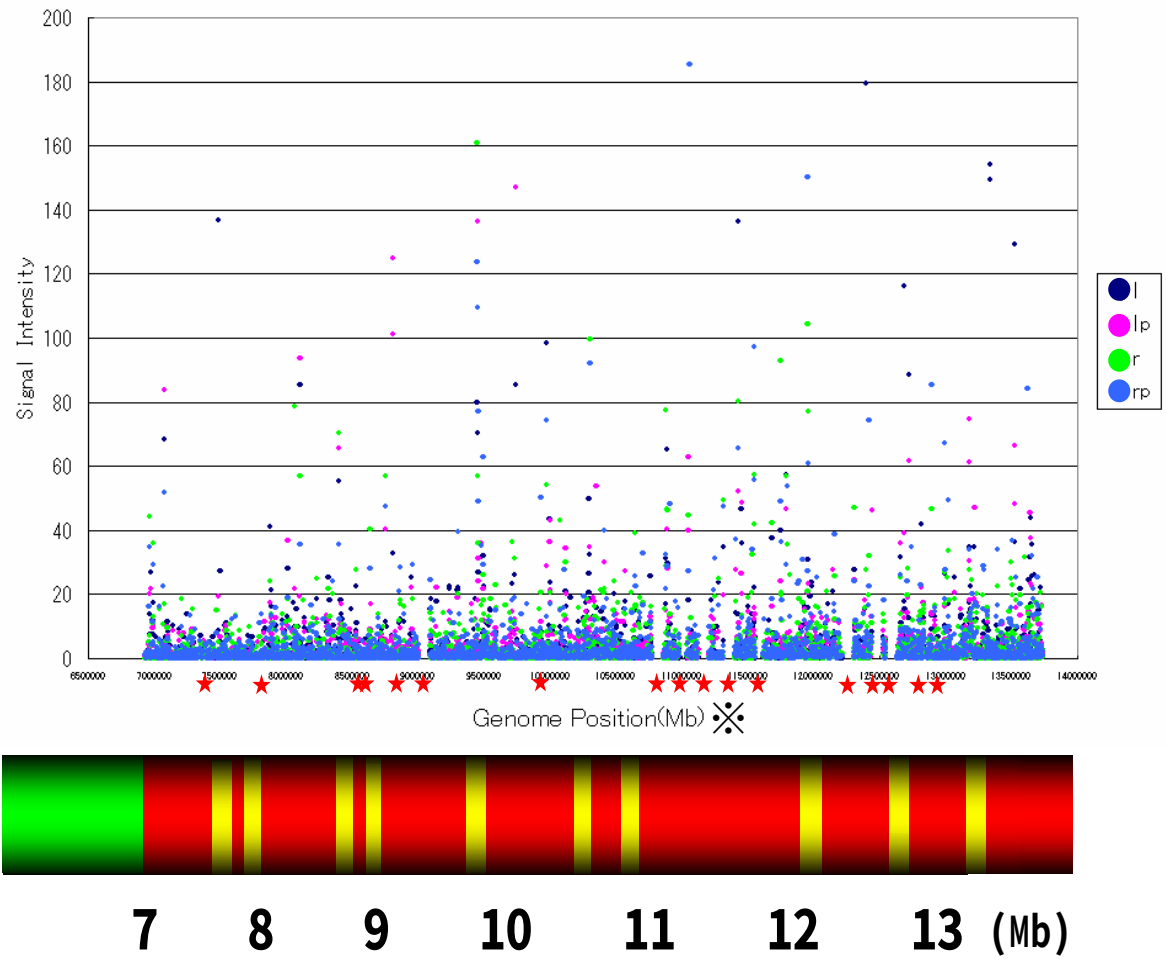


図 8. 5 番染色体長腕部のテロメア部(6.8 Mb)におけるリン酸飢餓応答性遺伝子発現

★ : クローンの欠落箇所を意味する (表 1 の青色クローン)

● l:leaf コントロール ● lp:leaf リン飢餓 ● r:root コントロール ● rp:root リン飢餓

※ ゲノムポジションの数字は、5 番染色体長腕部のコンティグ領域 MGG23-K9I9(13Mb)の通し番号である。黄色線は小ゲノムアレイに使用した 10 個のクローン (表 1 のオレンジ色クローン) を示す。

第 2 節 モデル植物ゲノム情報の他作物での遺伝子発現解析への利用

1-2-1 序章

モデル植物から得られたゲノム情報が近縁種作物の研究に利用されている。EST や各種 DNA マーカーを利用し、マクロレベルでゲノム構造比較が行われており、近縁種間では遺伝子の相同性や、遺伝子の順序（リニアリティー）が高度に保存されている (Jod. D 2002)。イネをモデルとする単子葉植物では、トウモロコシ、小麦、大麦、ソルガムなどのイネ科植物においてイネゲノムとの比較が行われており、共通な DNA マーカーによる遺伝子地図の作製や、遺伝子の存在予測が行われている (Bennetzen と Ma 2003)。双子葉植物においても、Fulton ら (2002) はシロイヌナズナゲノム配列とトマト EST を比較し、種を超えて保持された同祖遺伝子を 1025 個見つけている。しかし、モデル植物の遺伝情報をゲノムワイドに利用し、他作物での遺伝子発現解析を行った研究は少ない。

モデル植物シロイヌナズナでは様々な器官から集められた非重複 EST が 12,028 個得られており、EST クローンを使用した cDNA アレイが作製され、遺伝子発現解析に利用されている (Sasaki ら 2000)。この中には、蕾や莢 (silique) 由来の遺伝子クローンも含まれている (Asamizu ら 2000)。

シロイヌナズナでは、花の器官分化、根や葉の形態分化、栄養成長から生殖成長への相転換など多様な研究が行われている (Meinke ら 1998)。生殖に関連した突然変異が見つかっており、遺伝子同定も行われている (Preuss ら 1993, Twell ら 1998, Sander ら 1999, Mayfield と Preuss 2000, Shimizu と Okada 2000, Wilson ら 2001)。花粉分化に関する研究も行われており、花粉と柱頭との相互作用に関連したタンパク質が単離されている

(Takayama ら 2000a, Takayama ら 2000b, Mayfield と Preuss 2000)。しかし、生殖器官特異的遺伝子に関して、ゲノムレベルで研究された例は今のところ無い。シロイヌナズナは花が小さく、花粉を分化ステージ毎に採取することが困難なことも一因である。これに対し、シロイヌナズナの近縁種 *Brassica oleracea* の花はシロイヌナズナに比べて大きく、葯や柱頭をステージ毎に採取することが容易である。*B. oleracea* に属するキャベツ、ブロッコリー、カリフラワーでは、シロイヌナズナゲノムとの相同性が約 87% と推定された (Cavell ら 1998)。

本研究では、モデル植物シロイヌナズナの遺伝情報を利用し、他作物での遺伝子発現解析をゲノムレベルで行った。*B. oleracea* に属するキャベツ (*Brussels sprouts*) を材料とし、花粉分化ステージ毎に採取した mRNA を用いて、蕾由来 EST クローンを含むシロイヌナズナ cDNA アレイへのハイブリダイゼーションを行った。この結果から得られた組織特異的発現遺伝子について、シロイヌナズナのゲノム情報を基にキャベツにおける生殖器官特異性や遺伝子の同祖性を確認した。モデル植物のゲノム情報を用いて、他作物におけるゲノムワイドな遺伝子発現解析を行った。

1-2-2 材料および方法

1) 植物組織および mRNA 抽出条件

(1) 供試した植物材料

トマト品種: ハウス桃太郎 (Takii Seed, Kyoto, Japan)、ダイズ品種: すずゆたか (栃木県産原種)、シロイヌナズナ: コロンビアの各種子を定法に従い殺菌し、ショ糖 3% および寒天 0.8 % を含む MS 培地 (pH 5.8) に播種し、1 節に記述した無菌培養条件で 3 週間栽培した。トマト、ダイズは本葉を採取し、シロイヌナズナは胚軸から上部を採

取し、液体窒素で凍結し-80℃で保存した。全 RNA の抽出ならびに Poly(A) + RNA の精製方法については、1 節の方法に従った。

(2) *Brassica oleracea* 試料の調製

キャベツ *B. oleracea* var. *gemmifera* (*Brussels sprouts*) およびシロイヌナズナ(コロンビア)を温室で栽培した。シロイヌナズナのロゼット葉(AL)および花(AF)を採取し、Takada ら(2001)の方法により mRNA を抽出した。AF には蕾から開花状態のステージの花組織が含まれていた。*B. oleracea* では、4, 6'-diamidino-2-phenyl indole (DAPI; Watanabe ら 1991)染色を行い、花粉分化ステージの判定を行った。蛍光顕微鏡により花粉の核数を確認し、対応する葯と雌蕊を 3 ステージに分けて採取した(1 核期 ステージ[BA1 and BP1 蕾長: 4 ~ 5 mm]、2 核期 ステージ[BA2 and BP2 蕾長: 6 ~ 7 mm]、成熟期ステージ[BA3 and BP3 蕾長: >10 mm])。また、葉組織(BL)は栄養成長期に採取した。mRNA 抽出は Watanabe ら(1999)の方法により行った。

2) cDNA マクロアレイ実験条件

(1) cDNA マクロアレイの作製方法

マクロアレイの作成条件は Sasaki ら(2000)の方法に従った。非重複 EST クローン(Asamizu ら 2000)から蕾由来の cDNA クローンを約 50 %含む 2,880 個の cDNA クローンを選択し、2 反復してスポットした。蕾以外のクローンには地上部、根、液体培養植物由来のものが含まれていた(Asamizu ら 2000)。また、ハイブリダイゼーションのバックグラウンド値を測定するため、λファージのゲノム DNA (10 ng/μl)を同じアレイフィルター中に 96 個スポットした。標識プローブの調製方法は Sasaki ら(2001)の条件に従った。

(2) cDNA アレイのハイブリダイゼーション条件

プレハイブリダイゼーションの条件は、時間と温度条件を 50 °C、15 時間で行った他は 1 節のゲノム DNA アレイの条件に従った。ハイブリダイゼーションは 50 °C で 14 時間行い、フィルターの洗浄条件は 0.2×SSC、55 °C、15 分間で行った。ハイブリダイゼーションシグナルの取り込みについては、1 節に記述した方法に従った。

(3) データ解析条件

データの標準化方法については、フィルター毎にバックグラウンドの平均を求め、反復した cDNA クローンのシグナル値の平均値から差し引いたものをシグナル値(SV)とした。さらに、以下の式に従って相対的シグナル値(RSV: relative signal value)を求め、以降の解析に使用した。

$$RSV = (SV / \sum SV) \times 10^5$$

3) EST クローンの塩基配列情報解析

塩基配列情報の解析には、NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)、The Institute for Genomic Research (以下 TIGR: <http://www.igr.org/tdb/e2kl/ath1/ath1.shtml>)、MIPS(<http://mips.gsf.de/proj/thal/db/index.html>)、Database for Arabidopsis Research and Tools (以下 DART: http://biochem.agr.nagoyau.ac.jp/atgenome/index_noiframe.php3)を利用した。

4) RT-PCR 条件および PCR 産物のシーケンス条件

RT-PCR 条件は Watanabe ら(2000)の方法に従った。poly (A)⁺ RNA を First-Strand cDNA synthesis kit (Amersham) により 1 本鎖 cDNA を合成し、NotI-dT プライマーと遺伝子特異的プライマーによる RT-PCR を行った。PCR 条件は、ExTaq(Takara)を用いて(95℃ 1 分、60℃ 2 分、72℃ 2 分)を 25 ないし 30 サイクル行い、伸長反応を 72℃、5 分で行った。

た。PCR産物をアガロースゲル電気泳動後にゲルから切り出して MinElute Gel Extraction kit (Qiagen)により精製し、遺伝子特異的プライマーによる直接塩基配列解析を行った (310 Sequencer: PE Biosystems, Foster City, CA, USA)。

1-2-3 結果

1) トマトおよびダイズの mRNA によるシロイヌナズナ cDNA アレイでの遺伝子発現解析

トマトおよびダイズの葉から抽出したmRNAを用い、シロイヌナズナcDNAアレイにハイブリダイゼーションを行った。予備試験の結果、 $0.1 \times \text{SSC}$ 、 65°C 、30分の洗浄条件ではシグナル値の総計がシロイヌナズナcDNAをハイブリダイゼーションした場合と比較して小さく、発現解析には不適であった (データ未掲載)。しかし、シロイヌナズナと同じアブラナ科植物であるストック (*Mathiola incana*) で同様の実験を行った結果では、トマトやダイズほどのシグナル値の低下は起こらなかった (桑田私信)。このことは、種間でのゲノム相同性の差異を示唆している。そこで、ハイブリダイゼーション温度を 55°C 一定とし、洗浄時の塩濃度条件を $1 \times \text{SSC}$ 、 $0.5 \times \text{SSC}$ 、 $0.1 \times \text{SSC}$ で 15×2 回という条件でシグナル値の変化を比較した。シグナル値をヒストグラム化した結果から、シロイヌナズナmRNAプローブでは全ての洗浄条件間においてシグナル値の分布には変化が無いのに比べ、トマトやダイズでは洗浄時の塩濃度が低くなるに従い低シグナル化したクローンが増大した。ダイズではトマトに比べて分布の形状は保たれていたが、シグナル値はやはり低下した (図9)。 $0.5 \times \text{SSC}$ 、 55°C 、 5×2 回の条件で洗浄を行った場合、トマトではRSVがバックグラウンド値以上で、反復スポット間の差が ± 2 倍以内のクローンが全クロンの約44 % (1,261個)であった。同条件ではダイズお

よびシロイヌナズナでも同様であった (図10)。以上の結果、洗浄条件を $0.5 \times \text{SSC}$ 、 55°C 、 15×2 回とすることで、シロイヌナズナcDNAアレイによる他作物の遺伝子発現解析が可能なが示唆された (図11)。

2) 薬組織特異的発現遺伝子の同定

*B. oleracea*の薬において強く発現する遺伝子を同定するため、3ステージ (1核期、2核期、成熟期)の*B. oleracea*の薬と雌蕊から mRNAを抽出し、シロイヌナズナcDNAアレイに対してハイブリダイゼーションを行った。各ステージのRSVを葉のRSVと比較し、6~10倍、10倍以上となった遺伝子を選抜した。この結果、薬と葉を比較して6倍以上の転写量の変化を示した遺伝子クローンが99個 (約3.4 %)あった。6~10倍に変化した遺伝子が61個、10倍以上に変化した遺伝子が81個であった。全3ステージを通して10倍以上であった遺伝子クローンは61個 (約2.1 %)であった (表6)。

3) 薬特異的発現遺伝子の機能について

薬組織で特異的に高発現していた99個の遺伝子クローンについて、クラスタリングソフトウェア (Tree & View: Eisenら 1998)による解析を行った。薬では発現しない遺伝子や、葉と比べて極端に弱い発現を示す遺伝子の同定も行うため、薬と葉の比ではなく各組織のステージ (BA1, BA2, BA3, BP1, BP2, BP3, BL)間のRSVによりクラスター化を行った。この結果、薬の発達に伴って類似した発現パターンを示す3つの遺伝子グループに分類することができた (図12)。Cluster-IaにはBA2で高発現する4個のcDNAクローンが含まれていた。Cluster-IIaにはBA1とBA2で高発現する21個のcDNAクローンが含まれていた。Cluster-IIIaにはBA3で高発現するcDNAクローンが27個含まれていた (図12, 表7)。この薬特異的遺伝子の15 %は、既

に報告のある遺伝子に類似した機能を有していた。

4) cDNA マクロアレイで得られた特異的遺伝子発現の RT-PCR 法による確認

マクロアレイ法により得られた薬特異的発現の信頼性を高めるため、25 個の cDNA クローン (Cluster-Ia:3 クローン, IIa:13 クローン, IIIa:9 クローン) について各遺伝子の特異的プライマーによる RT-PCR を行った (図 13)。プライマー設計には、シロイヌナズナゲノム情報 (KAOS) を用いた。シロイヌナズナでは花粉ステージ毎の採取が困難であったので、鋳型となる poly (A)⁺ RNA は *B. oleracea* の葯 (BA1, BA2, BA3)、花粉 (BP3) および葉 (BL) から抽出したものを使用した。対照としてシロイヌナズナ由来の花 (AF) および葉 (AL) から抽出した poly (A)⁺ RNA を使用した。この結果、供試した 25 クローンのうち 19 クローンは AF に特異的であったことから、生殖器官特異的な発現遺伝子であると推察された。マクロアレイでのシグナル強度と RT-PCR での発現強度が類似したものは 6 クローン (32 %) であった (図 13)。この原因としては、cDNA アレイのハイブリダイゼーション時に相同な遺伝子のシグナルが混入したか、あるいはシロイヌナズナと *B. oleracea* とのゲノム相同性が 87 % と推定されている (Cavell ら 1998) ことから考え、設計した遺伝子特異的プライマーのアニーリング程度が不十分であると推察した。

RT-PCR 産物がシロイヌナズナ cDNA と同祖な遺伝子であることを確認するため、マクロアレイの結果と類似した RT-PCR 結果が得られた 6 クローン (図 13) の増幅産物について、塩基配列を部分解読した。この結果、#2804 クローンを除いたすべてのクローンにおける塩基配列の相同性は平均 85.4 % であった (データ未掲載)。これは Cavell ら (1998) が報告したゲノム相同率 (87 %) とほぼ一致していた。以上のように、シロイヌナズナ cDNA

マクロアレイにおいて薬特異的発現性を示したクローンは、*B. oleracea* の poly (A)⁺ RNA から増幅された PCR 断片と同祖関係にある遺伝子であると推察した。

1-2-4 考察

ハイブリダイゼーション条件を操作 (特異性の感度を落とし、誤相補結合を許容する) することで、シロイヌナズナゲノム情報を利用して他の作物種における遺伝子発現解析を行うことが可能であった。近縁種 *B. oleracea* を材料とした実験では、ゲノム間の相同性が 87 % (Cavell ら 1998) であるという結果を反映し、お互いの同祖関係にあると推察される遺伝子の発現が検出できた。

B. oleracea を使用した実験から得られた薬特異的遺伝子の中には、生殖器官での機能が報告された遺伝子が含まれていた。Cluster-Ia に含まれる 4 個の遺伝子のうち、#1196 は *XTH3* (*Endoxylglucan transferase 3*) であるが、この *XTH* 遺伝子は細胞壁のセルロースとキシログルカン構造の構成を行う酵素である (Nishitani と Tominaga 1992, Nishitani 1997, Campbell と Braam 1998, Yokoyama と Nishitani 2000)。*XHT3* は蕾組織においても発現していることが報告されている (Yokoyama と Nishitani 2001)。また、*XHT3* 遺伝子のプロモーター解析の結果から、このプロモーターは葯壁において強発現していることが明らかとなった (Ariizumi ら 2001)。#2804 は *lipid transfer protein (LTP)* と相同な構造を持っており、葯の分化初期に強く発現していることが今回の結果から明らかとなった。シロイヌナズナでは、これまでに 15 個の *LTP* 遺伝子が同定されており (Arondel ら 2000)、#2804 クローンも *in situ* の結果、葯壁に特異的な発現を行っていることが報告されている (Rubinelli ら 1998)。Cluster-IIa に

含まれる#1882 は oleosin-like protein (*GRP20*: glycine-rich protein) や anther-specific protein (Kim と Chung 1997, Mayfield ら 2001) と高い相同性を有していた。oleosin-domain を持つ遺伝子がコードしている *GRP* は、葯壁から花粉コートに移行してくることが明らかにされている (Mayfield ら 2001)。Cluster-IIIa に含まれている #350 は、シロイヌナズナに 11 個ある polygalacturonase (*PGA*) のひとつである *PGA4* であると推察される。この遺伝子は、蕾や開いた花で強く発現していることが知られている (Torki ら 1999)。#1244 は *LIM*-domain タンパク質をコードしている。このドメインを持つ遺伝子は葯分化ステージの後期に働き、真核生物では遺伝子発現や細胞骨格形成やシグナル伝達などの細胞分化の制御機能を有する (Dawid ら 1995)。#1244 も葯 (花粉) の分化後期に働いていることから、柱頭のアクチン骨格と相互作用しながら花粉発芽や花粉管伸長を担っていると推察される。表 7 にリストされた他の遺伝子についても既報の遺伝子と類似したものが含まれており、新規な葯特異的遺伝子と推定される。しかし、組織特異的あるいは分化特異的なホモログ遺伝子が未だ知られていないものが多く、葯や花粉での役割について言及することはできない。今後は T-DNA タグラインやトランスポゾンタグライン (Meissner ら 1999, Tissier ら 1999) 等を利用し、機能の推定を行う必要があると考えている。

様々な農業的形質についてシロイヌナズナをモデルとした遺伝解析が試みられている (Alonso-Blanco ら 1999)。近縁種のアブラナ科植物には種子の大きさや根の太さ等の農業形質に多様な種が存在していることから、形質に関連した遺伝子の単離にモデル植物の遺伝情報を利用する

ことは大切な技術であると考えている。本研究はヘテロプローブを利用したシロイヌナズナ cDNA アレイへのハイブリダイゼーションによって、モデル植物情報を応用した遺伝子の単離、同定を十分に行えることを明らかにした。今後は、モデル植物を利用した養分吸収に関する研究成果が、農作物へ応用する際に利用されるだろう。

1-2-5 図および表

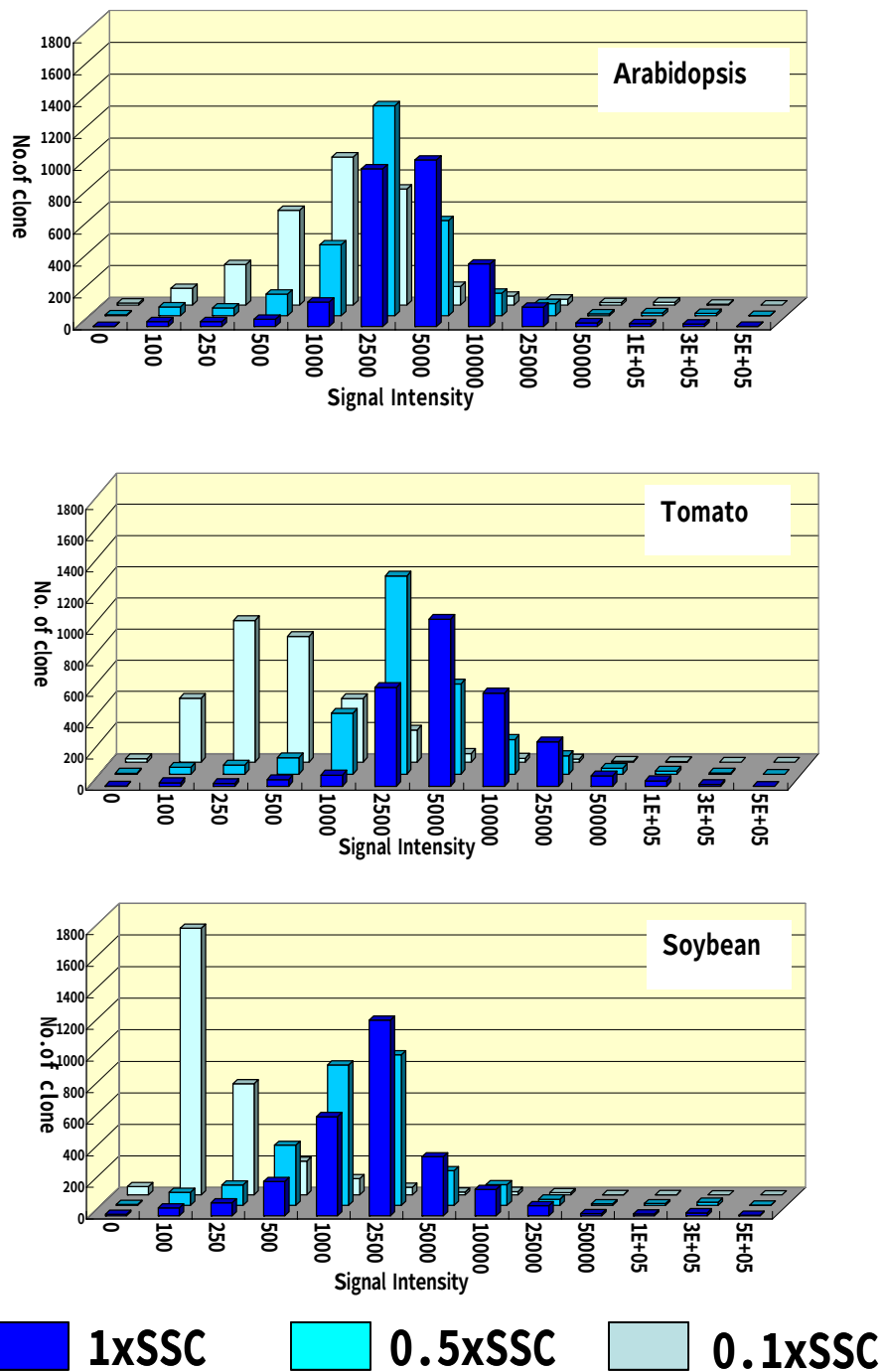


図 9. トマトおよびダイズ葉由来 mRNA とシロイヌナズナ cDNA アレイとのヘテロプローブハイブリダイゼーションにおいて洗浄時の塩濃度がシグナル強度の変化に及ぼす影響

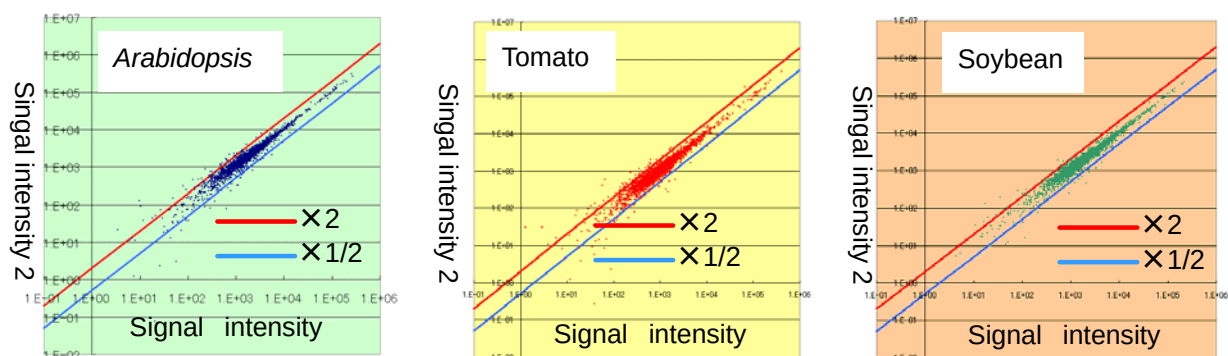


図 10. トマト及びダイズ葉由来 mRNA とシロイヌナズナ cDNA アレイとのハイブリダイゼーション(0.5×SSC, 55°C, 15min ×2)における反復スポット間の再現性 (図中の補助線は±2 倍を意味する)

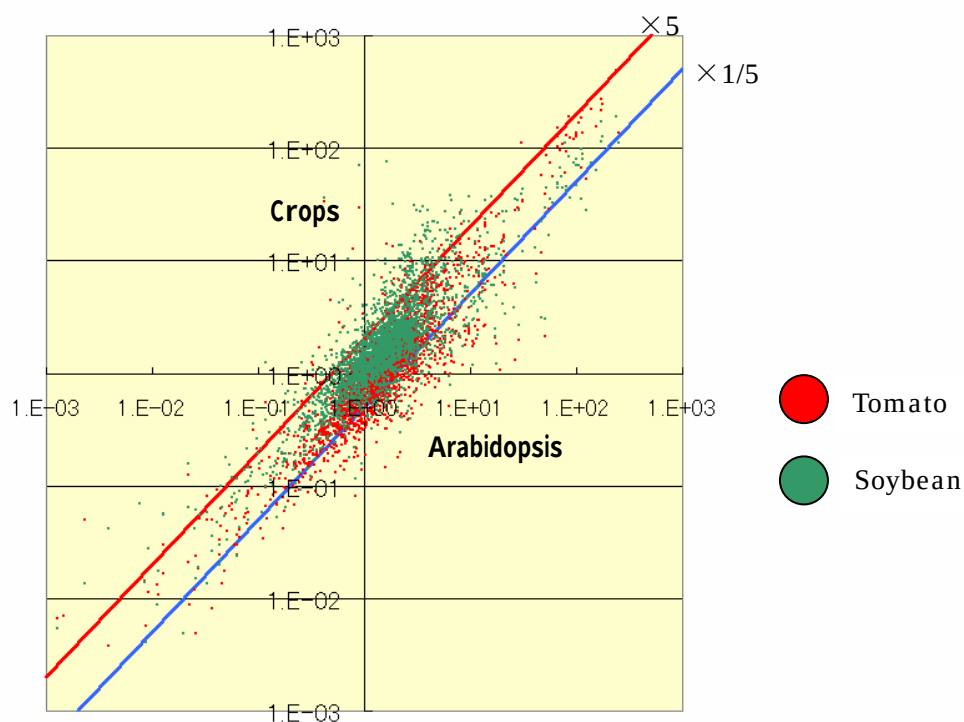


図 11. トマト及びダイズとシロイヌナズナ間での作物種特異的発現遺伝子プロファイリング

トマト、ダイズ、シロイヌナズナの葉由来 mRNA をシロイヌナズナ cDNA アレイにハイブリダイゼーション (0.5×SSC, 55°C, 15min×2) し、シロイヌナズナの葉の発現プロファイルをコントロールとして転写量の変化較を行った。図中の補助線は赤が 5 倍、青が 1/5 倍を意味する。

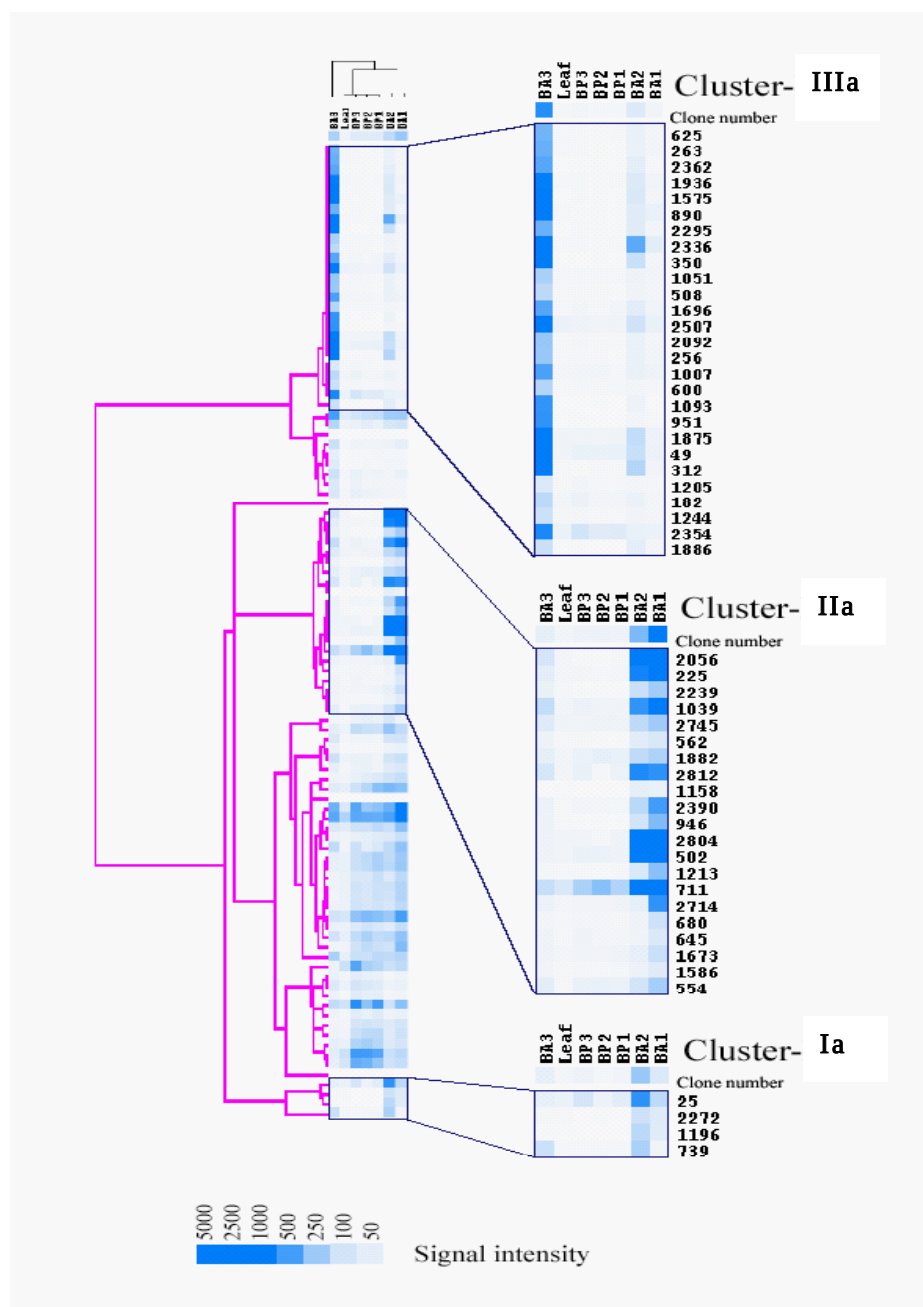


図 12. 薬組織特異的遺伝子のクラスタリング解析結果

葉由来 mRNA のプロファイリングと比較して 6 倍以上の転写量の変化を示した 99 個の遺伝子について、平均値を用いたクラスタリングを行った。系統樹の縦方向は組織および器官毎のステージの違いを意味する。各カラムの色は発現シグナル強度を示しており、青色が濃いほど高いことを意味する。

表 6. 葯分化ステージ毎の葯及び雌蕊特異的遺伝子数

Signal ratio of reproductive organ to leaf	Anther		
	stage 1	stage 2	stage 3
6.0 < Anther(pistil)/Leaf < 10	24	17	20
10 < Anther(pistil)/Leaf	30	23	28

表 7. クラスタリング解析により得られた葯特異的遺伝子リスト

BA1/BP1 1核期ステージ (蕾長4-5 mm) , BA2/BP2 2核期ステージ (蕾長6-7 mm) , BA3/BP3 成熟期ステージ (蕾長 >10 mm) , BL 葉

Clone number	Signal intensity							Accession no.	Annotation
	BA1	BA2	BA3	BP1	BP2	BP3	Leaf		
Cluster-Ia									
#25	126.1	438.4	34.4	43.2	20.4	72.4	23.3	AV533195	Extracellular superoxidase dismutase
#2272	54.1	89.0	7.7	2.1	2.3	1.9	5.2	AV532640	Dessication-related protein
#1196	50.7	132.1	4.0	1.0	0.9	0.9	2.6	AV533459	Endoxyloglucan transferase
#739	13.0	164.3	96.6	7.4	8.0	6.2	7.5	AV531861	Aspartic protease
Cluster-IIa									
#2056	862.5	666.8	71.9	4.8	2.3	2.6	9.2	AV531300	ATA20
#225	923.4	497.4	38.6	9.4	8.0	9.5	10.4	AV531027	GTPase activating protein
#2239	182.0	98.4	28.6	3.0	3.1	4.0	6.9	AV531918	Putative NAM protein
#1039	687.9	429.1	112.3	16.8	16.5	22.1	12.6	AV532060	ATA20
#2745	188.2	124.1	52.6	17.1	18.0	15.4	15.4	AV531048	Dessication-related protein
#562	66.1	44.0	19.4	2.9	3.5	4.7	4.5	AV532673	ABC transporter-like protein
#1882	157.7	121.7	36.7	32.1	36.6	23.5	11.6	AV532617	Oleosin
#2812	439.1	473.4	71.7	23.4	8.2	31.5	9.2	AV532731	ATA20
#1158	30.7	35.9	2.0	1.1	0.7	1.2	2.6	AV531666	Proline-rich protein
#2390	393.5	131.8	21.4	8.5	9.0	12.2	5.8	AV532252	unknown protein
#946	257.9	80.1	19.0	3.1	2.6	3.6	4.9	AV531283	Anthrnilate N-hydroxycinnamoyl benzoyltransfer
#2804	4153.0	1264.0	20.8	18.0	4.9	16.5	16.4	AV530826	Lipid transfer protein
#502	1797.0	541.1	18.9	19.0	23.3	24.6	15.0	AV532643	Invertase inhibitor homolog
#1213	237.1	63.3	7.6	4.4	3.8	6.0	5.4	AV530440	Cysteine endopeptidase 1
#711	2293.0	854.7	106.3	151.0	243.0	164.6	65.5	AV532563	Histone H2A
#2714	434.2	37.8	23.2	17.0	12.8	14.3	10.4	AV530749	β-ketoacyl-CoA synthase
#680	89.3	18.8	11.5	5.8	9.5	9.8	8.2	AV532294	Quinone oxidoreductase
#645	62.5	15.9	18.1	8.7	9.5	15.5	4.6	AV531071	Putative GDSL motif lipase
#1673	101.4	34.3	18.7	17.8	13.1	13.5	9.9	AV532916	ATP dependent transmembrane transporter protein
#1586	51.2	22.2	14.2	8.3	5.5	8.4	5.0	AV533481	unknown protein
#554	175.0	77.2	41.4	26.0	32.0	25.4	5.3	AV530726	Putative protein
Cluster-IIIa									
#625	10.2	28.7	290.9	4.3	3.2	5.1	6.5	AV533341	Galactose oxidase
#263	12.4	25.7	312.7	3.3	3.5	5.7	6.6	AV532925	Exopolysaccharuronase
#2362	5.5	39.0	349.3	2.3	2.7	3.7	2.4	AV532678	Putative pectin methyltransferase
#1936	15.3	58.8	527.8	6.0	3.9	7.1	7.5	AV531205	Putative pectin methyltransferase
#1575	9.5	64.9	822.3	2.8	2.9	4.5	2.9	AV530962	Pectinesterase
#890	28.7	50.2	746.9	2.3	2.3	3.1	6.3	AV532213	Putative pollen specific protein
#2295	10.9	50.1	305.7	3.4	3.2	5.2	3.4	AV530964	Pectin methyl-esterase-like protein
#2336	42.2	338.0	2435.0	4.6	3.5	6.5	5.4	AV533514	polygalacturonase(PGA3)
#350	10.4	103.3	841.1	2.4	2.6	2.0	3.0	AV532315	Exopolysaccharuronase
#1051	11.5	17.5	168.3	5.1	7.8	7.7	6.4	AV521862	Glutamine-dependent asparagine synthetase
#508	9.5	16.3	127.0	4.1	5.4	5.7	6.1	AV537361	Glutamine-dependent asparagine synthetase
#1696	15.9	43.8	351.0	12.5	6.1	11.7	5.2	AV531298	Pectin methyl esterase
#2507	30.3	85.8	661.7	14.8	14.6	17.9	23.8	AV531612	Pollen allergen (<i>Ole e 5c</i>)
#2092	9.3	28.2	208.9	6.0	4.3	9.4	4.8	AV532719	Putative protein
#256	11.4	27.8	203.1	4.2	4.3	7.3	5.7	AV531293	Exopolysaccharuronase
#1007	18.8	27.6	373.6	7.0	10.6	10.7	10.3	AV531558	Pollen allergen (<i>Ole e 1</i>)
#600	7.3	12.1	146.7	6.4	5.8	8.1	5.3	AV540384	putative(stomatin-like)
#1093	3.4	19.7	428.6	1.9	2.1	1.9	3.6	AV530346	Pectinesterase
#951	5.5	12.1	433.7	1.2	1.8	2.2	3.4	AV532491	No annotation
#1875	19.5	112.5	560.0	15.3	13.1	15.8	13.0	AV530928	Hypothetical protein
#49	22.1	104.0	536.7	31.9	27.1	29.2	16.0	AV531876	Unknown protein
#312	14.2	143.8	608.2	4.4	5.9	3.5	5.8	AV530298	ABA-inducible protein-like protein
#1205	7.4	9.9	60.0	6.2	7.2	10.7	6.3	AV522557	Sucrose transport protein SUC1
#182	9.8	24.2	130.0	12.2	12.3	23.0	12.1	AV521964	Sucrose transport protein SUC1
#1244	10.3	14.1	94.6	5.5	5.3	10.1	6.7	AV530706	Putative LIM domain protein
#2354	24.2	33.5	483.2	50.8	47.7	79.2	23.3	AV530742	Agp6
#1886	10.5	38.9	97.6	2.1	1.9	2.2	3.3	AV533447	Unknown protein

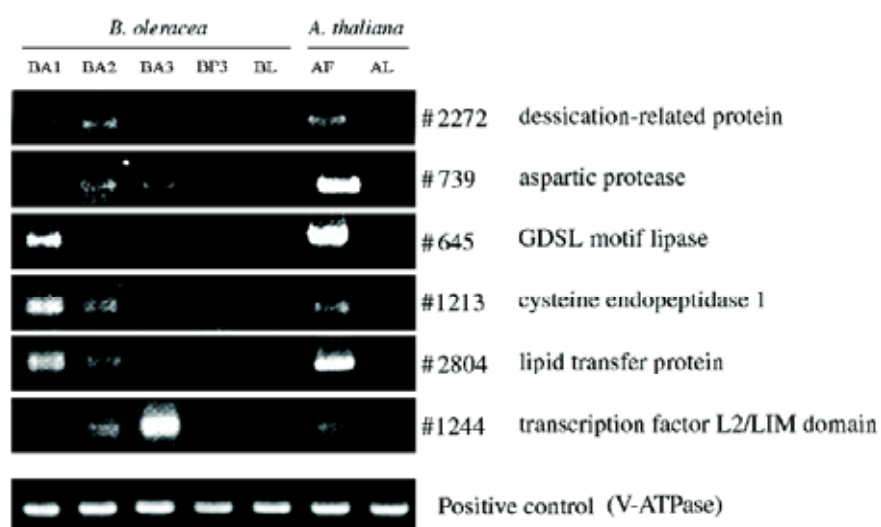


図13. cDNAマクロアレイ解析により同定された生殖器官特異的発現遺伝子のRT-PCR解析結果

キャベツ:BA1 1核期花粉ステージ(蕾長 4-5 mm) , BA2 2核期花粉ステージ (蕾長 6-7 mm) , BA3/BP3 成熟期花粉ステージ(蕾長 >10 mm) , BL 葉, シロイヌナズナ:AF 蕾, AL 葉

NotI-dT により逆転写したcDNAに対して、各遺伝子特異的プライマーによるRT-PCRを行った。ポジティブコントロールとしてヒトのVacuole-ATPaseを同時に供試した。

第 2 章 リン酸応答の網羅的遺伝子発現解析

第 1 節 シロイヌナズナ系統のリン酸応答

2-1-1 序 章

植物には様々なリン酸吸収戦略が備わっており、その能力は遺伝的に異なっている。植物は根圏のリン酸濃度が低下すると根毛が増加し、リン酸との接触面積を高めて吸収効率を高めていることが知られている (Schmidt と Schikora 2001)。シロイヌナズナでは、根圏のリン酸濃度が 50 μM より少なくなると根数や側根数が増加し、オーキシンに対する感受性が高まる (López-Bucio ら 2002)。また、土壤中に大量に存在している不溶性のアルミニウムリン酸塩やフィチンなどから積極的にリン酸を吸収するために、キレート力の強い有機酸 (クエン酸やピスチジン酸など) や有機物からリン酸を遊離させる酸性フォスファターゼを根圏に分泌している (Hirsch ら 1999, Baldwin ら 2001, Richardson ら 2001)。自然界では常にリン酸の欠乏、飢餓という危険にさらされてきたため、植物は巧妙なリン酸吸収の機構を進化の過程で獲得してきたと推察される。Narang ら (2000) はシロイヌナズナのアクセッション間におけるリン酸吸収能力の違いを報告している。リン酸源としてリン酸カリウムとハイドロキシアパタイト (リン酸カルシウム) を含む培地で 36 種のシロイヌナズナアクセッションを栽培し、葉に蓄積したリンの量や、根量、酸性フォスファターゼの分泌量などを比較した。この結果、供試したアクセッションはリン酸吸収能力の違いにより 3 つのグループに分けられた。標準的に実験に使用されている代表的アクセッションであるコロンビア (Col-0) のリン酸吸収能力は、高いグループには属していなかった。しかし、低リン酸環境におけるコロンビアの生育

を他のアクセッションと比較した研究は少ない。

モデル植物シロイヌナズナのゲノム配列解読に使用されたコロンビアは、EST の集積やそれを利用した cDNA アレイおよびタグライン作製にも利用されている。しかし、コロンビアを用いてリン酸飢餓応答性を研究するには、広くシロイヌナズナ種内でのコロンビアのリン酸欠乏に対する応答性を知る必要がある。

シロイヌナズナのアクセッションは世界中で収集されており、緯度、高度、土壌、気象などの異なる地域で生息する多様な種が集められており、研究に利用することができる。本研究では、コロンビアを含む多数のアクセッションを用いて、低リン酸条件に対する生育の違いを比較した。低リン酸培地にアクセッションを無菌播種し、生育の違いとリン酸欠乏時の特徴であるアントシアニン蓄積について観察を行った。また、異なるリン酸濃度条件間での生育量の変化についても比較を行った。

2-1-2 材料および方法

1) 供試したシロイヌナズナのアクセッション

シロイヌナズナアクセッションの種子は、SASSC から入手した 247 種 (表 8) を用いた。これにコロンビアを加えた 248 種について供試した。

2) 培地条件ならびに無菌播種方法

低リン酸培地として、MS 培地 (Murashige と Skoog 1962) のリン酸成分 (KH_2PO_4) を 100 μM に改変したものにショ糖 2 %、寒天 0.8 % (Wako, Tokyo, Japan) を加え、pH 5.8 に調製したものをオートクレーブにより滅菌し (121 $^{\circ}\text{C}$, 15 分)、 γ 線滅菌済み角型 2 号シャーレ (Eiken, Tokyo, Japan) に 40 ml 分注したものを使用した。標準培地としてリン酸濃度を 1 mM に調製したものを使用した。

アクセッション種子を定法により殺菌し、1 cm 間隔のグリッドをシャーレの底に当てて各 10 粒を等間隔で播種した。シャーレ容器あたり 10 系統のアクセッションを播種し、同時にコロンビア種子を 10 粒播種した。栽培条件は 12 時間日長（明／暗）条件、光条件 $35 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 、温度は 22°C （一定）で行った。また、シャーレはサージカルテープ Micropore #1530-3（3 M, St. Paul, MN, USA）でシールして通気性を確保した。

3) 生育観察方法

コロンビアの大きさと比較して、小さいものを小、同程度を Col 並、大きいものを大の 3 段階に分け、播種後 4 週間目に目視による観察を行った。同時に、発芽率およびアントシアニンの蓄積について観察を行った。

2-1-3 結 果

1) 247 種のシロイヌナズナアクセッションと比較したコロンビアの生育

247 種のシロイヌナズナのアクセッションを低リン酸培地 (KH_2PO_4 : $100 \mu\text{M}$) に無菌播種し、コロンビアとの生育比較を行った（表 9）。この結果、播種後 35 日目の生育においてコロンビアと同等の生育を示したものは全体の約 45 %（109/242: 不発芽 5 種を除く）であった。また、35 日目までにすでに枯死していたアクセッションが 19 種あった。

植物におけるリン酸欠乏の症状として、アントシアニンの蓄積はよく知られた現象である（Duffら 1989）。そこで、生育過程におけるアントシアニン蓄積の有無について観察した。この結果、アントシアニンが認められたものは、コロンビアを含めて約 95 %（220/232: 分離した 8 種を除く）であった（表 9）。これらの結果からコロンビアは、供試したシロイヌナズナアクセッションの中では低

リン酸条件に対して平均的な生育特性を持っていると推察した。

2) 低リン酸培地においてコロンビアとは異なる生育を示したアクセッション

低リン酸条件においてコロンビアとは異なる生育を示したアクセッションが見いだされた。

JA18, JA31, JA34, JA38, JA44, JA62, JA63, JA69, JA8, JA90, JA156, JA288 は栽培 35 日目の観察においてコロンビアより旺盛な生育を示し、特に JA69 と JA83 は 2 ヶ月後の観察時点でも緑色を保っていた（図 15）。シャーレ中で開花したアクセッション（JA9, JA215, JA231, JA240）も見いだされた（図 16）。これら特徴的なアクセッションのうち 8 種（JA44, JA62, JA63, JA69, JA83, JA215, JA231, JA242）について、低リン酸培地 (KH_2PO_4 : $100 \mu\text{M}$) と標準リン酸培地 (KH_2PO_4 : 1 mM) に同時に再度無菌播種し、90 日後に地上部の乾燥重量 (80°C , 24 時間乾燥) を比較した（図 14）。この結果、リン酸濃度の差に応じて乾燥重量が変化したアクセッションと、ほとんど差を生じないアクセッションが含まれていた。乾燥重量の違いは、コロンビアおよび JA242 では約 2 倍、JA62 および JA63 ではそれぞれ 6.5 倍、7.8 倍の変化があったのに対し、JA44, JA69, JA83 では 30 %、JA215, JA231 ではほとんど変化が認められなかった。乾燥重量変化が大きかった JA62 と JA63 は低リン酸条件での草型が小さい種であり、変化がほとんど無かった JA215 と JA231 は早期に開花した種であった（図 16）。

2-1-4 考 察

シロイヌナズナの代表的アクセッションであるコロンビアの低リン酸条件に対する応答性を把握するため、多数のアクセッションとの生育の比較を行った。この結果、低リン酸培地におけるコロ

ンビアの生育は平均的なものであった。また、供試したアクセッションの中には、低リン酸条件に対してコロンビアとは異なる生育を示したのが見つかった。播種後 2 ヶ月の時点ではほとんどのアクセッションは既に枯死しているのに対し、JA69 や JA83 は生育していた(図 15)。生育が遅延することで、低リン酸環境に対する適応が可能な種であると推察された。JA215 や JA231 は、低リン酸区と標準区とで生長量に変化が認められなかったが、低リン酸条件では速やかに開花・結実を行っていた(図 16)。このアクセッションでは、異なるリン酸濃度条件間で乾物重に差が無いことから、植物体内に吸収されたリン酸量ではなく、根圏のリン酸濃度環境に応じて生育相の転換が行われたと推察された。これに対し、リン酸濃度が増加するに伴って生長量が増大するアクセッションでは、リン酸を吸収する容量が大きく、また吸収後のリン酸の利用に関するメカニズムにも違いがあると推察された。また、コロンビアと比較して短期間に枯死したアクセッションについても、低リン酸環境に対する反応が異なっている可能性がある。これらの特徴的なアクセッションについて、低リン酸環境への適応に関与する遺伝子座の特定を行うことは、今後の農作物の改良への手掛かりとなるだろう。Yan(2001)らは、リン酸要求性の異なるマメ科植物 (*Phaseolus*) 品種を交雑し、RIL(recombinant inbred line)を作成してリン酸吸収能力に関する QTL 解析を行っている。近年になり、DNA アレイ法と QTL 解析とを組み合わせた e-QTL 法が開発されており、量的遺伝子の同定をゲノムレベルで行う技術として注目されている(Morgante と Salamini 2003, Bhalerao ら 2003)。今後は、アレイ手法を応用した量的遺伝子の同定技術が進展するものと期待される。

無菌培養による生育の比較は実験室内で簡易に行え、環境変動要因の影響が少ないため再現性も

高い利点があった。しかし、植物個体同士の根が絡み合ってしまう、根組織を分別して採取することが困難であり、根の重量変化を測定することはできなかった。栄養条件の変化に応じて根毛の長さや密度が大きく変化することが知られているので(Bates と Lynch 1996, Narang 2000)、根の形態変化や成育量を測定することで詳細な低リン酸条件に対する適応性を把握することが可能であろう。イオンクロマト法を使用したリン酸蓄積量の測定により、カーボン／リン酸含量比等を比較することで省肥料型品種の育成に関しても何らかの手掛かりが得られるであろう。

2-1-5 図および表

表 8. 低リン酸応答性比較を行ったシロイヌナズナのアクセッション

JA	accession nam	ABRC	JA	accession nam	ABRC	JA	accession na	ABRC
JA1	Aa-0	CS934	JA122	Kn-0	CS1272	JA239	Ty-0	CS1572
JA2	Ag-0	CS936	JA123	KI-0	CS1274	JA240	Uk-2	CS1578
JA3	Ak-1	CS938	JA124	KI-5	CS1284	JA241	Uk-3	CS1576
JA5	Am-0		JA125	Kn-0	CS1286	JA242	Uk-4	CS1580
JA6	An-1	CS944	JA126	Ko-3		JA243	Van-0	CS1584
JA7	Ang-1	CS950	JA127	Ko-4		JA244	Vi-0	CS1582
JA8	Ba-1	CS952	JA129	Kr-0	CS1296	JA245	Wa-1	CS1586
JA9	Bay-0	CS954	JA130	Kro-0	CS1300	JA246	Wc-1	CS1588
JA10	Bch-1	CS956	JA131	La-1	CS1302	JA247	Wc-2	CS1590
JA11	Bd-0	CS962	JA132	Lan-0	CS1304	JA248	Wil-1	CS1594
JA12	Be-0	CS964	JA134	Le-0	CS1308	JA249	Wil-2	CS1596
JA14	Bla-1	CS970	JA135	Li-2	CS1312	JA250	Wil-3	CS1598
JA15	Bla-10	CS982	JA136	Li-2-1	CS1314	JA251	Wl-0	CS1630
JA16	Bla-12	CS986	JA137	Li-3-3	CS1318	JA252	Ws-0	CS1602
JA17	Bla-14	CS988	JA140	Lip-0	CS1336	JA253	Wt-1	CS1604
JA18	Blh-1	CS1030	JA141	LI-0	CS1338	JA254	Wt-2	CS1606
JA20	Bor-0		JA142	Lm-2	CS1344	JA255	Wt-3	CS1608
JA21	Br-0	CS994	JA143	Lö-1	CS1346	JA256	Wt-4	CS1610
JA22	Bs-1	CS996	JA144	Loh-0	CS1350	JA257	Wt-5	CS1612
JA23	Bs-5	CS1000	JA145	Lu-1	CS1352	JA259	X-0	CS1616
JA24	Bsch-0	CS1002	JA146	Lz-0	CS1354	JA261	Xxx-0	CS1620
JA25	Bu-0	CS1006	JA147	Ma-0	CS1356	JA262	Yo-0	CS1622
JA26	Bu-2	CS1008	JA148	Map-0		JA264	Zü-0	CS1626
JA27	Bu-3	CS1010	JA150	Me-0	CS1364	JA265	An-2	CS946
JA28	Bu-4	CS1012	JA151	Mh-0	CS1366	JA267	Bch-3	CS958
JA29	Bu-5	CS1014	JA152	Mh-1	CS1368	JA268	Bch-4	CS960
JA30	Bu-9	CS1022	JA153	Mir-0	CS1378	JA269	Be-1	CS966
JA31	Bu-11	CS1024	JA154	Mnz-0	CS1370	JA270	Bla-2	CS972
JA32	Bu-13	CS1026	JA155	Mr-0	CS1372	JA271	Bla-3	CS974
JA33	Bu-14	CS1032	JA156	Mrk-0	CS1374	JA272	Bla-4	CS976
JA34	Bu-14a		JA157	Ms-0	CS1376	JA273	Bla-5	CS978
JA35	Bu-15	CS1034	JA158	Mt-0	CS1380	JA274	Bla-11	CS984
JA36	Bu-17	CS1036	JA159	Mv-0	CS1386	JA276	Bs-2	CS998
JA37	Bu-19	CS1040	JA160	Mz-0	CS1382	JA277	Bsch-2	CS1004
JA38	Bu-20	CS1042	JA162	Nc-1	CS1388	JA279	Bu-6	CS1016
JA39	Bu-21	CS1044	JA163	Nd-0	CS1390	JA280	Bu-7	CS1018
JA40	Bu-22	CS1046	JA164	Nie-0	CS1392	JA281	Bu-8	CS1020
JA41	Bu-23	CS1048	JA165	No-0	CS1394	JA282	Bu-18	CS1038
JA42	Bu-24	CS1050	JA166	Nok-0	CS1398	JA283	Ca-1	
JA43	Bu-25	CS1052	JA167	Nok-1	CS1400	JA284	Chi-1	CS1074
JA44	Bur-0	CS1028	JA168	Nok-2	CS1402	JA285	Chi-2	CS1076
JA48	Cal-0	CS1062	JA169	Nok-3	CS1404	JA286	Co-2	CS1086
JA49	Can-0	CS1064	JA170	Nok-4		JA287	Co-3	CS1088
JA51	Cha-0	CS1068	JA172	Nw-0	CS1408	JA288	Co-4	CS1090
JA53	Chi-0	CS1072	JA173	Ob-0	CS1418	JA289	Db-1	CS1102
JA55	Cit-0	CS1080	JA174	Ob-1	CS1420	JA290	Db-2	CS1104
JA56	CI-0	CS1082	JA175	Ob-2	CS1422	JA291	Dra-1	CS1118
JA57	Co-1	CS1084	JA176	Old-1	CS1426			
JA58	Col-0		JA177	Old-2	CS1428			
JA61	Da-0	CS1098	JA178	Or-0	CS1432			
JA62	Db-0	CS1100	JA179	Öst-0	CS1430			
JA63	Di-0	CS1106	JA180	Ove-0	CS1434			
JA64	Di-1	CS1108	JA181	Oy-0	CS1436			
JA65	Di-2	CS1110	JA182	Pa-1	CS1438			
JA66	Do-0	CS1112	JA184	Per-1	CS1444			
JA67	Dr-0	CS1114	JA185	Per-2	CS1448			
JA68	Dra-0	CS1116	JA186	Per-3	CS1450			
JA69	Edi-0	CS1122	JA187	Pf-0	CS1452			
JA70	Ei-2	CS1124	JA188	Pi-0	CS1454			
JA71	Eil-0	CS1132	JA189	Pla-0	CS1458			
JA72	El-0	CS1134	JA190	Pn-0	CS1468			
JA73	En-2	CS1138	JA191	Po-1	CS1472			
JA74	Ep-0	CS1140	JA192	Pog-0	CS1476			
JA75	Er-0	CS1142	JA193	Pr-0	CS1474			
JA78	Est-0	CS1148	JA194	Pt-0	CS1478			
JA79	Et-0	CS1152	JA195	Ra-0	CS1480			
JA80	Fe-1	CS1154	JA196	Rak-2	CS1484			
JA81	Fi-0	CS1156	JA197	Rd-0	CS1482			
JA82	FI-1	CS1160	JA198	Ri-0	CS1492			
JA83	FI-3		JA199	Ron-0	CS1488			
JA84	For-1		JA200	Rou-0				
JA85	Fr-2	CS1168	JA201	Rsch-0	CS1490			
JA86	Fr-5	CS1174	JA202	Rsch-4	CS1494			
JA87	Ga-2	CS1182	JA203	Ru-0	CS1496			
JA88	Gd-1	CS1184	JA205	Sah-0	CS1500			
JA89	Ge-0	CS1186	JA206	Sap-0	CS1506			
JA90	Ge-1	CS1188	JA207	Sav-0	CS1514			
JA91	Ge-2	CS1190	JA208	Se-0	CS1502			
JA92	Gie-0	CS1192	JA209	Sei-0	CS1504			
JA93	Gö-0	CS1194	JA211	Sf-0				
JA94	Gö-1		JA212	Sf-1	CS1512			
JA95	Gr-1	CS1198	JA213	Sf-2	CS1516			
JA96	Gre-0	CS1210	JA214	Se-1	CS1518			
JA97	Gü-0	CS1212	JA215	Se-2	CS1520			
JA98	Gy-0	CS1216	JA216	Sh-0	CS1522			
JA99	Ha-0	CS1218	JA217	SI-0	CS1524			
JA100	Hau-0	CS1220	JA218	So-0				
JA104	Hi-0	CS1228	JA220	Sp-0	CS1530			
JA105	Hi-2	CS1230	JA222	St-0	CS1534			
JA106	Hi-3	CS1232	JA225	Su-0	CS1540			
JA107	Hm-0		JA226	Sue-0				
JA108	Hn-0	CS1234	JA227	Sv-0				
JA109	Hs-0	CS1236	JA228	Sy-0				
JA111	Is-0	CS1240	JA231	Ts-2	CS1554			
JA114	Jl-1	CS1248	JA232	Ts-3	CS1556			
JA115	Jm-0	CS1258	JA234	Ts-6	CS1560			
JA116	Jm-1	CS1260	JA235	Ts-7	CS1562			
JA117	Kä-0	CS1266	JA236	Tsu-0	CS1564			
JA119	Kas-1	CS1264	JA237	Tu-1	CS1568			
JA120	Kb-0	CS1268	JA238	Tul-0	CS1570			

表 9. アクセッションの生育観察結果

発芽状況		コロンビアとの相対的生育				アントシアニンの蓄積			開花
発芽	不発芽	0※	小	Col並	大	無し	分離	有り	
242	5	24(5)	122	109	11	11	8	220	4

※5種が不発芽、19種が枯死であった

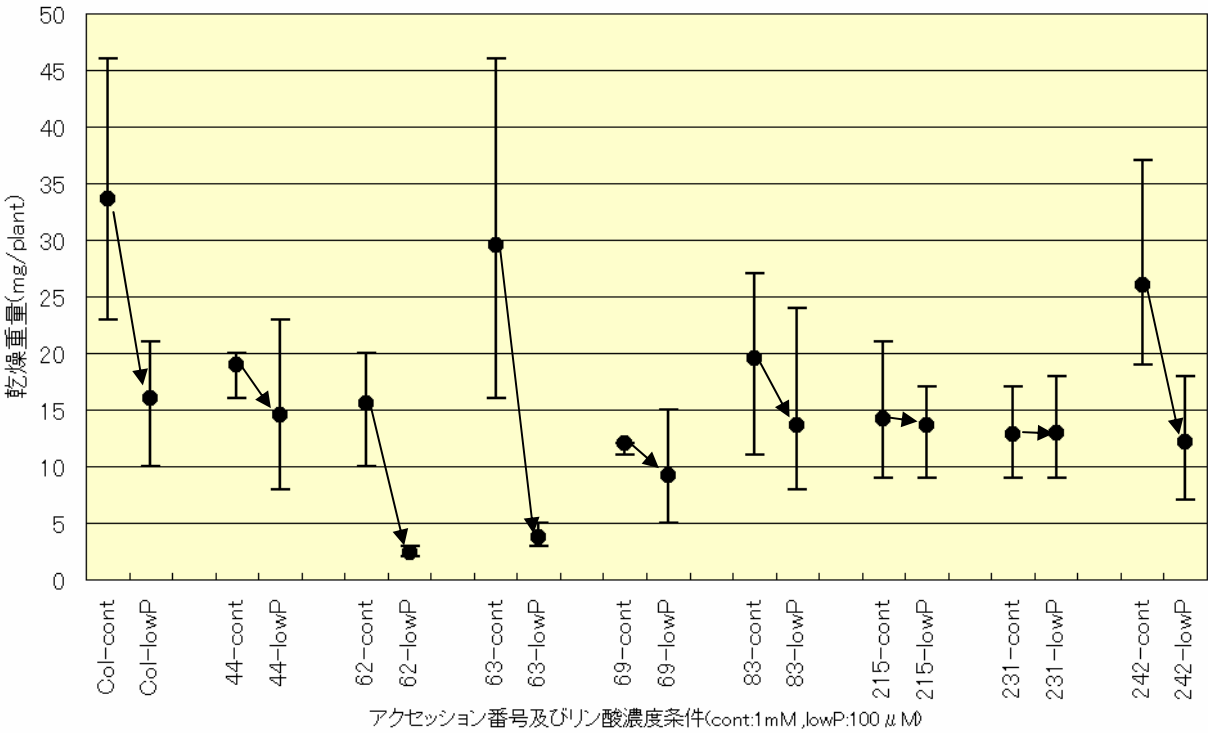


図 14. シロイヌナズナアクセッションにおけるリン酸濃度と地上部乾燥重量の変化

リン酸濃度の異なる MS 培地で 90 日間生育した植物体を 80℃で 24 時間乾燥し、アクセッション毎に 5 個体の乾燥重を測定した (●は平均値)。矢印の傾きが大きい程、リン酸濃度に応じて生育差が大きいことを意味する。

35 days after seeding



Control (KH_2PO_4 :1mM)



lowPi (KH_2PO_4 :100 μM)

65 days after seeding

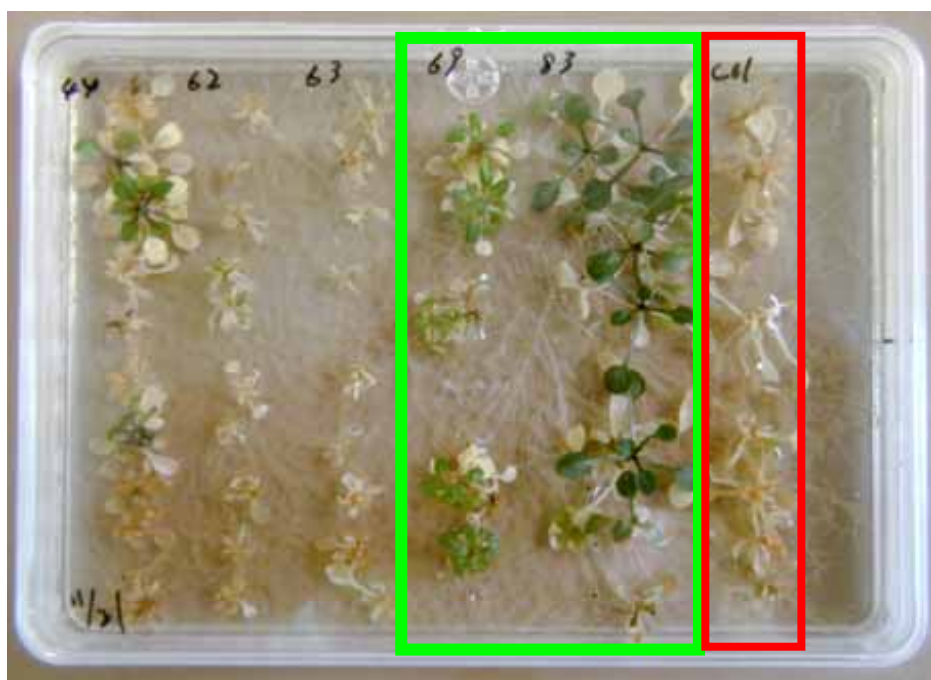
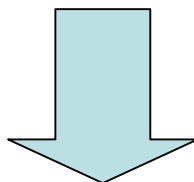


図 15. 低リン酸培地において生育遅延を示したアクセッション

シャーレの右端（赤の囲み）のコロンビアは 65 日目には枯死しているが、JA69 と JA83（緑の囲み）は生育している。

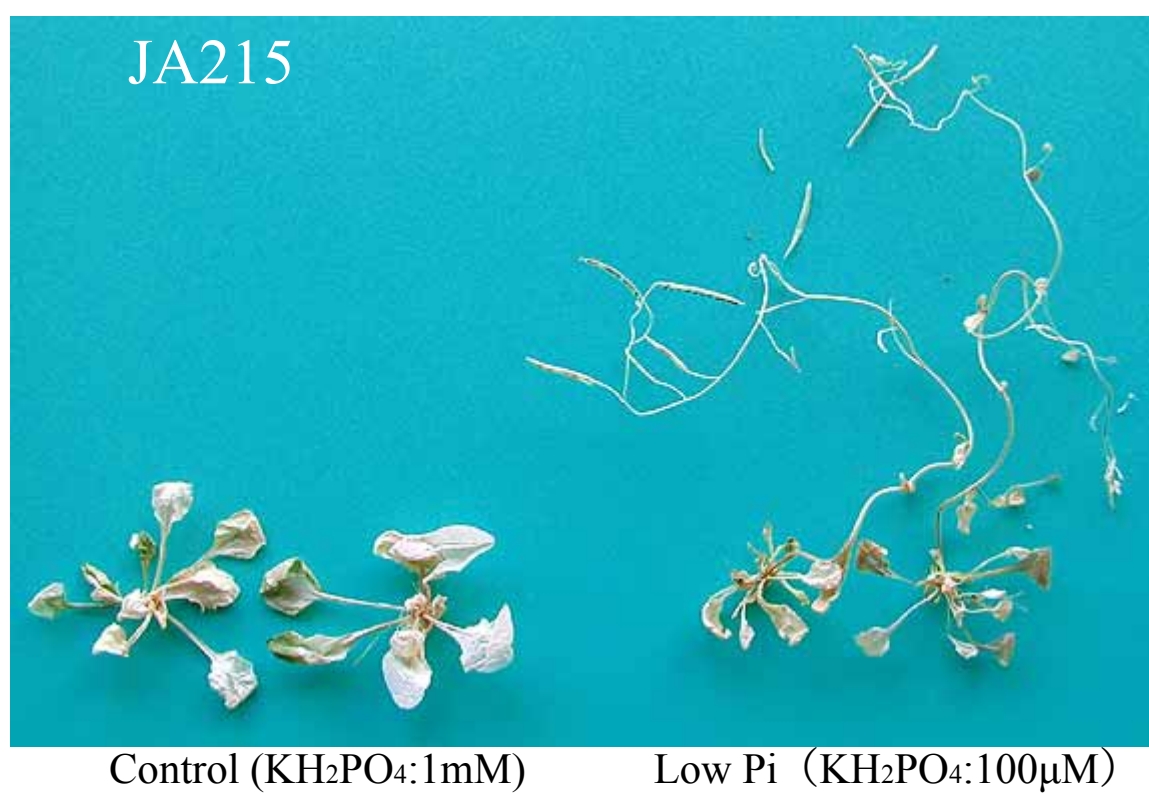


図 16. 低リン酸条件において、開花結実したアクセスン

JA215 は標準濃度のリン酸条件では栄養成長していたが、低リン酸条件では開花・結実し生殖成長を行っていた。しかし、乾物重量に差は無かった。

第 2 節 リン酸飢餓における網羅的遺伝子発現解析

2-2-1 序章

ゲノム情報に基づき遺伝子発現変化を大量に解析する手段として、DNA アレイ法が開発されてきた。高等植物においても、様々な形式の DNA アレイがポストゲノム解析の手段として用いられている (Somerville ら 1999, Schaffer ら 2000)。Girke ら (2000) はシロイヌナズナの EST を 2,600 個利用し、種子発達過程における遺伝子発現変化や組織特異的に発現する新規遺伝子を同定した。Deshikan ら (2001) は、シロイヌナズナの培養細胞に対して過酸化水素処理を行い、酸素ストレスに応答性を示す特異的発現遺伝子を同定した。また、病原菌の感染や、防御反応に関係するサリチル酸やジャスモン酸に応答する遺伝子の同定も報告されている (Shenk ら 2000, Sasaki ら 2000)。Seki (2002) らは、完全長 cDNA を用いたマイクロアレイにより乾燥や低温ストレスへの遺伝子発現レベルでの応答性を調べた。この結果、ストレス誘導性遺伝子の発現傾向がノーザン解析とアレイ解析との間で一致したと報告している。

植物の養分吸収に関する研究もゲノムレベルで行われている。Wang ら (2001) はトマトの根において硝酸態窒素や無機栄養素 (リン、カリウム、硫黄等) に応答性を示す遺伝子を 1,280 個選抜し、硝酸態窒素飢餓に特異的に応答する遺伝子の同定を行った。Thimm ら (2001) は、鉄欠乏に応答する遺伝子をシロイヌナズナで同定した。彼らの研究では、DNA アレイ解析による発現変化を代謝経路中の遺伝子に対応して解析しており、ストレス応答を植物体内での生理的な側面から包括的に捉えている。

リン酸欠乏に応答する遺伝子群に関しても研究が行われている (Hammond ら 2003, Wu ら 2003)。

Hammond ら (2003) は、リン酸欠乏時に特異的に発現が誘導される遺伝子のプロモーター検索を行った。水耕栽培したシロイヌナズナにおいて、リン酸欠乏に対して 2.5 倍以上の発現変化を起こした遺伝子を同定し、新規なプロモーター配列を見つけた。Wu ら (2003) は、同じく水耕栽培したシロイヌナズナを材料として、リン酸飢餓処理に応答する遺伝子の発現変化を報告した。彼らはリン酸飢餓処理を 72 時間行い、中央値の 2 倍以上を示した 1,835 個の遺伝子について解析を行った。しかし、リン酸吸収に関与する高親和性リン酸トランスポーター *AtPT2* 遺伝子の誘導は認められなかった。*AtPT2* は酵母の高親和性リン酸トランスポーター遺伝子 *PHO84* (Bun-Ya ら 1991) と相同な遺伝子として単離され (Muchhal ら 1996)、リン酸欠乏時に根で発現が増大することが知られている (Okumura ら 1998, Mudge ら 2002)。

酵母や大腸菌ではリン酸吸収に関与する因子が同定されている。酵母におけるリン酸吸収遺伝子は *PHO* 遺伝子群 (*PHO* regulon) と呼ばれ、リン酸濃度環境に応じてリン酸吸収の増大を行う機構が解明されている (Bun-Ya ら 1991, Lenburg と O'shea 1996, Abel ら 2002, 三村ら 2003)。*PHO* 遺伝子群にはリン酸トランスポーター遺伝子 (*PHO84*) と酸性フォスファターゼ遺伝子 (*PHO5*) が含まれており、*PHO84* 欠損株では恒常的に *PHO5* の発現が誘導されていることが知られている。他に *PHO5* の遺伝子発現と協調して、ポジティブに誘導される因子 (*PHO2*, *PHO4*, *PHO81*) とネガティブに抑制される因子 (*PHO80*, *PHO85*) が見つかっている。リン酸が豊富にある状態ではサイクリン (*PHO80*) /サイクリン依存性キナーゼ (*PHO85*) 複合体によって、酸性フォスファターゼ遺伝子 (*PHO5*) の転写因子 *PHO4* が高度にリン酸化され、*PHO5* のプロモーターへの結合が起きない。逆にリン酸が欠乏した状態では、サイクリン依存型キナーゼインヒビター

(*PHO81*)が *PHO80/PHO85* 複合体に結合し、*PHO4* のリン酸化が阻害され、*PHO2* および *PHO4* が *PHO5* 遺伝子プロモーター領域に結合し、*PHO5* の転写量を増大させると考えられている(Ogawa ら 2000)。しかし、植物において *PHO* 遺伝子群と対応した遺伝子に関する知見は少なく、遺伝子発現調機構の詳細は不明である(Abel ら 2002, 三村ら 2003)。植物のリン酸代謝機構を解明するためにも、リン酸飢餓に応答した遺伝子のゲノムワイドな解析が必要である。

本研究では、シロイヌナズナの cDNA アレイを用いてリン酸飢餓処理が遺伝子発現変化に及ぼす影響についてゲノムワイドに解析を行った。かずさ DNA 研究所で整備された非重複 EST クローン 12028 個 (Asamizu ら 2000)を用いた cDNA マクロアレイと、Agilent 社(Palo Alto, CA, USA)が作製した 22K オリゴマイクロアレイを利用することで、非重複な 22064 個の遺伝子(シロイヌナズナ全遺伝子数の約 87 %)を対象とした。Agilent 社の *Arabidopsis* 2 Oligo 22K アレイには、シロイヌナズナ遺伝子の 5' 非翻訳領域配列から設計した 60mer の合成オリゴ DNA がインクジェット方式でスポットされており、類似遺伝子間の交叉ハイブリを防ぐことができる(Hughes ら 2001)。これら 2 種類の DNA アレイを利用し、リン酸欠乏時に植物内で起きる遺伝子発現変化を詳細に調べた。データ解析には web 上の遺伝子データベース情報を利用し、既存の知見との比較や代謝経路に及ぼす影響について検討した。

2-2-2 材料および方法

1) cDNA マクロアレイおよびマイクロアレイについて

12,028 個のシロイヌナズナ cDNA クローン (Asamizu ら 2000) を Sasaki ら(2000)の方法に従

い調製し、マクロアレイフィルターの作製を行った。スポットはスポット機器 biomeck2000 (Beckman)により 384 ピンを使用して行った。12×8cm のナイロン膜 BioDyne A(Pall)に 4608 遺伝子クローン (384 スポット×12/枚)を反復せずにスポットした。内部コントロールとして、 λ DNA 1 kb fragment (Takara) が 48 スポット、Human TFR 1 kb fragment (Takara)が 16 スポット、ヒト oestrogen-related receptor γ (Gen Bank accession No. AF058291: KIAA0832: <http://www.Kazusa.or.jp/huge>)ならびに hCLOCK(Gen Bank accession No. AB002332.1: KIAA0334: <http://www.Kazusa.or.jp/huge>)遺伝子を 3 分割した断片と全長断片を各 4 スポット用いた。マイクロアレイは Agilent *Arabidopsis* 2 Oligo22K アレイ (Agilent Technology)を使用した。スポットされている遺伝子は 21,500 個(<http://www.chem.agilent.com/>)であった。

2) 植物液体培養条件

シロイヌナズナのアクセッションであるコロンビアの種子を定法に従い殺菌し、MS 培地 (Murashige と Skoog 1962)にショ糖 2 %を加え pH 5.8 に調製したものを 200 ml 容積のジャム瓶 (M-225: Hakuyo Glass, Tokyo, Japan)に 40 ml 分注し、オートクレーブ(121°C, 15 分間)滅菌した後、10 粒を播種した。発芽を揃えるために 4°Cで一晩管理したものを 22°C (一定)、40 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ の 12 時間(明/暗)の日長条件で培養した。培養は水平シェーカー IP-8900 (EYLA, Tokyo, Japan) で回転培養(100 rpm)を行った(図 17)。

3) 培地中のリン酸濃度の測定方法

液体培養時のリン酸の消費程度を調べるため、0 ~29 日にわたり植物体の生育重量(新鮮重)と、培地中の残存リン酸量を測定した。リン酸の定量

は塩酸モリブデン比色法で行った (U-3000: Hitachi, Tokyo, Japan)。植物体重量は 10 個体、リン濃度の測定は 3 回行った。

4) リン酸飢餓処理条件

培養 21 日目に植物体を滅菌水で洗浄後、ペーパータオルで軽く脱水し、 KH_2PO_4 のみを 10 μM に調製した低リン酸 MS 培地に移植し、24、48、72 時間のリン酸飢餓処理を行った。各処理は明期 8 時間経過後に開始し、処理終了後には速やかに液体窒素による凍結を行い-80°Cで保存を行い、実験に供した。

5) poly (A)+ RNA の調製方法

全 RNA の抽出は、材料を液体窒素中で粉碎した後、RNeasy Plant mini kit (Qiagen) を用いて行い、poly (A)+ RNA の精製は oligotex dT-30Super (Takara) を用いて行った。

6) cDNA マクロアレイのハイブリダイゼーション条件

100 ng の poly (A)+ RNA を ThermoScript RT-PCR kit (Invitrogen) を使用し、付属の oligo(dT) プライマーにより逆転写し、その際に標識基質として 5 μCi の $[\alpha\text{-}^{32}\text{P}]\text{dCTP}$ を使用した。未反応の dNTP を PCR purification kit (Qiagen) により除き、液体シンチレーションカウンター 2500TR (パッカードジャパン、東京) により標識状態を確認しプローブとした。3 枚で 1 セットのマクロアレイフィルターは、重ねる順序を入れ替えてプラスチックバッグに封入したものを 3 組準備し、5 $\mu\text{g}/\text{filter}$ の poly (dA)₁₅ (Takara) を含むチャーチリン酸バッファー (Church と Gilbert 1986) により 55°C、12 時間以上のプレハイブリダイゼーションを行った。プローブは 98°C で 5 分間加熱後に氷水中で急冷し、バッグから取り出したプレハイブリダイゼーション

ンバッファーに混ぜて再度封入し、55 °C で 18 時間のハイブリを行った。洗浄は全て 63 °C で行い、2×SSC でリンス後、1×SSC で 15 分、0.1×SSC で 15 分×2 回行った。

7) マクロアレイデータ解析条件

ハイブリダイゼーションシグナルをイメージングプレート (Fuji film) に転写し、蛍光イメージスキャナー Storm830 (Amersham) により 25 μm の解像度でスキャンを行い、アレイ解析用ソフトウェア Array Vision (ImagingRes, Ontario, Canada) 及び、表計算ソフトウェア Excel (Microsoft, WA, USA) を用いて解析した。取り込みデータ (raw data) から各 DNA スポット近隣の非 DNA スポット領域の値をバックグラウンドとして差し引き、フィルターごとに計算した中央値で除してデータの標準化を行い相対発現量 (RSV) として解析に用いた。

$$(\text{RSV}) = (\text{raw data} - \text{back ground value}) / \text{median}$$

アレイにスポットしたサンプルのうち、PCR 産物量が少なかったクローンや、複数の産物が増幅されたクローンおよび、AGI コードに hit しないクローンを除いた 9764 クローンについてクラスター解析ソフトウェア Gene Spring (Silicon Genetics, RoadWood City, CA, USA) により解析を行った。

8) 22K マイクロアレイのハイブリダイゼーション条件

全 RNA 0.5 μg を Low RNA Input リニア増幅&ラベル化キット (Agilent Technologies) および蛍光色素 Cyanine 3-CTP 及び Cyanine 5-CTP (Perkin-Elmer/NEN, Boston, MA, USA) により増幅して標識し、cRNA 濃度を測定し各 1 μg ずつを試験に用いた。ハイブリダイゼーション及びデータ測定条件はすべて Agilent 社が推奨するプロトコルに従った。

9) 22K マイクロアレイデータ解析条件

解析用ソフトウェア Feature Extraction ver.6.1.1(Agilent)で数値化を行い、Excel (Micro Soft)により解析を行った。得られたフィーチャ(Agilent 社の DNA スポットの名称)シグナルについて、シグナルの飽和の確認と、バックグラウンドに対する有意性(Uniformity Outlier)の判定を行った結果、21387 遺伝子が解析可能と判断された。解析にはバックグラウンドサブトラクション、色素補正、サロゲート値検査を全て行った最終フィーチャシグナル値を用いた。クラスタリングには解析ソフト Aquity2.0 (Axon Union City, CA, USA), よび MicroArray Analyzer(TREBAX) の Batch Learning-SOM プログラム (Kanaya ら 2001) を用いた。

10) ウェスタンブロット法条件

リン酸飢餓処理(cont, 6, 12, 24, 48, 72時間)を行った植物体を液体窒素中で粉碎し、抽出バッファー (50 mM Tris [pH 7.5], 10 mM β -ME, 1 mM phenylmethanesulfonyl fluoride :PMSF) を 1 g/ml の割合で加えてよく混合し、8000 rpm $\times$ 15 min、4°C の条件で遠心し、可溶性タンパク質の抽出を行った。得られたタンパク質をブラッドフォード法 (Biorad)により定量後、定法により SDS 化を行った。

SDS 化したタンパク質試料 10 μ g を Leammli(1970)らの方法により SDS-PAGE を行い、セミドライ式転写装置 BE-211(Bio Craft, Tokyo, Japan)により PVDF 膜 (Biorad, Hercules, CA, USA) に転写した。Masuda ら (2003) の方法に従い、光合成関連タンパク質抗体 (LSU, LHCP, PORC) を用い ECL-plus ウェスタンブロットキット (Amersham) により目的タンパク質の検出を行った。発光部位の検出には、高感度 CCD 撮影装置 LAS1000(Fuji film)を用いた。

2-2-3 結果

1) 液体回転培養植物の生育状況

植物体を無菌的に扱うことで、水耕栽培で問題となる藻やバクテリア等の繁殖や、移植時の損傷などの要因を除くことが可能である。また、液体培地を使用することで、栄養条件の変換も容易に行うことができる。リン酸飢餓時における酵素活性への影響(Duff ら 1998)やジャスモン酸応答性(Sasaki ら 2001)の研究に、培養細胞や液体培養植物体が用いられていた。そこで、植物体を無菌的に液体回転培養し、リン酸飢餓処理を与えた(図 17)。4 週間に渡り、培養植物の新鮮重量と培地中の残存リン濃度を測定した結果、培養植物の新鮮重量は 14 日目頃から増加しはじめ、これに伴って培地中のリン濃度は減少し、24 日でほぼ 0 となった(図 18, 19)。

2) リン酸飢餓処理の条件設定

液体培養条件の検討結果(図 18)を基に、培養開始時の約 1/3 の量(390 μ M)のリン酸が残存している 21 日目にリン酸濃度を 10 μ M に改変した低リン酸 MS 培地に移植し、リン酸飢餓処理を 3 日間行った。10 μ M の濃度は一般的な土壌中の遊離リン酸濃度(Bielecki 1973)を参考にした。植物体の生育が急速に増加している 21 日目に低リン酸状態に植物を移すことで、リン酸飢餓が誘導されると判断した(図 19)。液体回転培養した 21 日目の植物体は、根部と地上部組織とが絡み合った球状であった。組織の分別時に傷を付けることで遺伝子発現に影響が出ることが予想されたため、実験にはサンプル採取直後の植物体全体を用いた。

3) cDNA マクロアレイ法での解析に供した遺伝子クローンの選抜

マクロアレイでは、PCR 増幅が少なかったクロー

ン、複数の増幅産物が認められたクローン、AGI コードと対応しない遺伝子クローンを除外し、残った 9764 遺伝子について解析を行った。AGI コードに対応しないクローンについては、オルガネラ由来の遺伝子の混入や、遺伝子のキメラ化（浅水私信）が考えられたため除外した。また、無処理区（0 時間）との転写量の変化が大きな遺伝子であっても、発現量の低いクローンについては再現性に問題が生じることが予想されたので、便宜的に各リン酸飢餓処理区において 1 区でも中央値との比が 1 以上を示した 6,793 クローンをプロファイリングの対象とした。

4) cDNA マクロアレイによるリン酸飢餓応答の解析

(1) 遺伝子発現変化の概要

無処理区と各リン酸飢餓処理区との遺伝子発現比較を行ったところ、24 時間処理区の遺伝子発現変化が大きな傾向を示した（図 20）。24 時間のみで発現が上昇するものは 256 個もあったのに対し、48 時間リン酸飢餓処理区ではあまり変化が見られず、また 72 時間リン酸飢餓処理区では発現が減少する遺伝子が多くなる傾向が認められた（図 21）。

各リン酸飢餓処理区において、1 区でも無処理区に対する転写量の変化が 5 倍以上、あるいは 1/5 倍以下を示した遺伝子を選んだところ、5 倍以上を示したものは 330 個、1/5 以下を示したものは 238 個が得られた（補助データ 1）。

(2) リン酸飢餓に応答する既知遺伝子の動き

RNSI(At2g02990) はリン酸飢餓時に発現が誘導され、遊離型のリン酸を合成すると考えられている分泌型 S-like RNase である(Bariola ら 1999)。*RNSI* はリン酸飢餓に応答し、プロモーター領域に *MYB* ドメインを持つ遺伝子群に属している(Rubio ら 2001)。この他にも高親和性リン酸トランスポーター *AtPT2*(At2g38940 : Muchha ら 1996, Mukatira

ら 2001) や、葉緑体チラコイド膜の生合成に関与し、リン酸欠乏時に発現が上昇することが報告されている含硫脂質合成酵素 *SQD1* (At4g33030) および *SQD2* (putative protein : At5g01220) が同様に 24 時間リン酸飢餓処理区で高い転写量の変化を示した(Benning ら 1993, Yu ら 2002)。これらの結果から、24 時間以降の処理においてリン酸飢餓が誘導されていることが示唆された。

(3) 未知なリン酸飢餓誘導性遺伝子の機能推定

リン酸飢餓に応答した遺伝子群について、細胞内局在性を DART (http://biochem.agr.nagoya-u.ac.jp/atgenome/index_noframe.php3) により確認し、各遺伝子のアミノ酸配列から相同性検索及び核内局在性、膜貫通構造、特徴的モチーフ構造の有無をインターネット上のデータベース NCBI database(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)、TIGR *Arabidopsis thaliana* genome annotation database (<http://www.tigr.org/tdb/e2kl/ath1/ath1.shtml>)、MIPS(<http://mips.gsf.de/proj/thal/db/index.html>) により調べた。この結果、従来は unknown protein や hypothetical protein あるいは putative protein と分類されていた遺伝子の中にも機能の推定が可能なものや、構造の類似した遺伝子が含まれていることが明らかとなった。hypothetical protein、unknown protein、putative protein とされた遺伝子は、発現が上昇したグループでは 176 個 (53.3%)、減少したグループでは 81 個 (34%) 含まれていた（補助データ 1）。

全ての区において強く発現する At1g73010 は、当初 hypothetical protein とされていたが、アミノ酸構造から相同性検索した結果、トマトやイネで見ついている酸性フォスファターゼとの相同性があり、リン酸欠乏時に働くことで遊離リン酸の供給を担うものと推察された。

イオントランスポーター様の構造を持つ遺伝子

も含まれていた。24 時間リン酸飢餓処理区で高発現する At5g52450 (putative protein)は、12 回の膜貫通ドメインを有する Mate efflux protein family であった。この他にも、At5g38380 (unknown protein)、At2g38460 (unknown protein)、At1g55910 (hypothetical protein)、At3g06450 (unknown protein) 等は 8 回の膜貫通ドメインが予測される金属イオン (あるいはアニオン) トランスポーターと推定された。At1g05360 (unknown protein)は 6 回の膜貫通ドメインを持つ液胞膜貫通型タンパク質と推定された。リン酸トランスポーターとして *AtPT2* (At2g38940) と *PHT2;1* (At3g26570) 葉緑体リン酸トランスポーター (Versaw と Harrison 2002, Ferro ら 2002)遺伝子が含まれていたが、*AtPT2*は飢餓処理時間に応じて上昇する傾向を示していたのに対して、*PHT2;1*の転写は 24 時間目に増加した後は減少した (データ未掲載)。

環境ストレスに応答すると予想される遺伝子も含まれていた。呼吸鎖の complex III 形成に関連した *BCS1* タンパク質の遺伝子 (At3g50930)や、様々な病害抵抗性関連遺伝子と類似した遺伝子 (At1g58140, At2g40000, At5g41570)が含まれていた。アレルゲン性物質としても知られるヘベインタンパク質の遺伝子 (At3g04720)の発現量が 24 時間以降に高くなる傾向を示した。この他にも、解毒やストレスへの応答性が指摘される P450 系遺伝子として発現が上昇するもの (At4g37310, At3g14620, At2g22330) と、減少するもの (At1g01280, At2g46960, At3g26280)が含まれていた。

転写因子と推定されるものも含まれていた。*AP2/EREB* ドメインを持つ転写因子が 6 個含まれており、発現が上昇するものが 5 個 (At1g28370, At3g12600, At1g73540, At1g77640, At5g61600)、減少するものが 1 個 (At3g14230)あった。この他に

も *Myb* 関連転写因子である At5g60890 は 1/5 倍以下に減少していた。*CREB* 型が 1 個 (At3g48360)、*WRKY* 型が 2 個 (At4g18170, At2g30590)、*zinc-finger* 構造を持つものが 12 個 (8 個が発現上昇、4 個が発現減少)含まれていた。*EREB*, *CREB*, *WRKY* の関与する生命現象は多岐にわたるが、エチレンを介した老化や、黄化、抵抗性誘導などが明らかとなっている。エチレンに関連したエチレン応答因子 *ERF* (Ethylene Response Factor)は 4 個含まれており、全て転写量は増加していた。

(4) リン酸飢餓処理による光合成関連遺伝子発現の抑制

遺伝子の転写量が無処理区に対して 1/5 以下に減少した遺伝子には、光化学反応系の構成に関与する遺伝子や、RuBisCO タンパク質に関連した遺伝子が多く含まれていた。タンパク質の核内移行性予測プログラム (Target P) による検索の結果、葉緑体への移行性が予想された遺伝子のうち、発現が増加した遺伝子は 13 % (43/330) であるのに対し、転写量が減少した遺伝子は 26 % (62/238) が含まれていた。ミトコンドリアへの移行性を持つものの割合はそれぞれ 9.4 % (31/330) および 6.7 % (16/238) であったことと、シロイヌナズナゲノム全体の葉緑体関連遺伝子は 14 %、ミトコンドリア関連遺伝子は 11.4 % と予測されていることから考えて (AGI 2000)、リン酸飢餓処理は光合成に関連した遺伝子発現の抑制を引き起こしていることが示唆された。

(5) リン酸飢餓処理が光合成関連タンパク質合成に及ぼす影響

リン酸飢餓が光合成関連遺伝子タンパク質の合成に与える影響を調べるため、RuBisCO LSU、LHCP (Light-Harvesting Chlorophyll a/b Pigment-Protein Complex)、PORC (Protochlorophyllide

oxidoreductase type C; Masudaら2003)の3つの光合成関連タンパク質の抗体を用いて、ウェスタンブロット法によるタンパク質合成への影響を調べた。この結果、供試した3つの遺伝子のタンパク量は、マクロアレイ解析結果と同様に24時間以降の区で減少していた(図22)。LHCP以外は葉緑体にコードされる遺伝子であることから、これら光合成関連遺伝子発現の低下現象は、核とオルガネラの両方で起きていることが示唆された。

5) cDNAマイクロアレイによるリン酸飢餓応答性の解析

(1) 2種類のアレイ解析に含まれている遺伝子

マイクロアレイ (Agilent *Arabidopsis* 2 Oligo 22K) には、21,500 個のシロイヌナズナ遺伝子が含まれていた。一方、マクロアレイ解析では、AGI コードに対応している 9764 遺伝子について解析した。この 2 種類のアレイに含まれている遺伝子の重複を調べた結果、マイクロアレイにはマクロアレイの遺伝子が 9,200 個 (94.2 %: 9,200/9,764) 含まれていた。しかし、564 クローン (5.8 %: 564/9,764) はマクロアレイにのみ含まれていた(図 23)。

(2) コントロール区の違いが両アレイ発現解析に及ぼした影響

リン酸飢餓処理はマクロアレイ実験と同じ処理条件で行った。コントロール区として、リン酸飢餓処理期間中に起こる生長に伴う変化を考慮し、並行無処理区(24, 48, 72 時間)を設けた。また、予備試験としてマクロアレイ実験と同様の無処理区(0 時間)を設け、2つのコントロール区に対する転写量の変化の比較を行った。並行無処理区は、リン酸飢餓処理と同時に標準リン酸濃度の培地に植物体を移植して行った。これらのハイブリダイゼーション実験はすべて 2 反復で行った。発現解析には、マイクロアレイ解析ソフトウェア Feature

Extraction ver.6.1.1 (Agilent)で得られた最終フィーチャシグナルを用いた。対応するリン酸飢餓処理区と並行無処理区との転写量の変化を求め、ハイブリダイゼーションシグナル値の飽和度判定及びバックグラウンドとの有意判定をパスした 21,387 遺伝子について遺伝子発現解析を行った。

2 倍以上に転写が増加した遺伝子の数を調べると、無処理区と比較した場合では 48 時間飢餓処理区で該当する遺伝子数が最も少なく、並行無処理区と比較した場合とは傾向が逆転していた(データ未掲載)。5 倍以上に発現が上昇した 70 個の遺伝子について、無処理区と並行無処理区を用いた転写量の変化のデータ比較を行った。双方のコントロール区に対する転写量の変化の变化パターンが一致する遺伝子もあったが、At4g15210.1 (glycosyl hydrolase family14: beta-amylase) のように並行処理区との転写量の変化が強調される遺伝子や、At2g11810.1 (putative monogalactosyl diacylglycerol synthase: MDGD) のように全く異なる発現パターンを示す遺伝子があった(表 12)。この遺伝子は、Awai ら(2001)が報告した *AtMDG3* (現在は *MDG3*) であり、リン酸飢餓にตอบสนองして強く発現が誘導される。2 種類のコントロール区との比較では、並行無処理区との比較を用いた転写量の変化が一致していた。

(3) リン酸飢餓にตอบสนองした遺伝子発現の概要

発現変化が 2 倍以上、あるいは 1/2 倍以下となった遺伝子は、それぞれ 1,092 個および 468 個であった。このうち 48 時間飢餓処理区においてのみ発現が変化した遺伝子は、上昇したものが 474 個 (43.4 %: 474/1,092)、減少したものが 306 個 (65.4 %: 306/468) 得られ、他の処理区に比べて顕著に多かった(図 24)。この傾向は、ユークリッド距離によるクラスタリングを行った結果からも明らかで、24 時間飢餓処理区および 72 時間飢餓処

理区と 48 時間飢餓処理区とは異なるノードに分かれた(図 25A)。リン酸飢餓処理後の 48 時間で遺伝子発現の変動が最も大きくなり、72 時間で沈静化するという傾向は Wu ら(2003)が報告した水耕栽培によるシロイヌナズナでのリン酸飢餓応答性結果とよく一致していたが、Hammond ら(2003)が報告した傾向とは異なっていた。

(4) リン酸飢餓誘導性遺伝子のクラスタリング

K-means 法により 5 個のクラスタリングを行ったところ、48 時間リン酸飢餓処理区で発現がピークとなる a グループ(438 遺伝子), b グループ(181 遺伝子)と、飢餓処理が進むに従って遺伝子発現が上昇する c グループ(275 遺伝子), d グループ(104 遺伝子)、および発現が抑制される e グループ(499 遺伝子)に分類できた(図 25B)。

a および b のグループには Cytochrome p450、Glutathione transferase、Glycosyl hydrolase family、*WRKY* family transcription factor、Xyloglucan endotransylglucosylase/hydrolase、Auxin induced protein、ABC transporter、PEPCase、リン酸トランスポーターが含まれていた。Glutathione transferase については、リン酸欠乏で転写量が増加した例がトマトで報告されている(Wang ら 2001)。

c および d のグループには、Inorganic phosphate transporter をはじめ Nitrate transporter putative、Potassium transporter putative、Sulfate transporter protein などのイオントランスポーター類に加え、Ribonuclease *RNSI*、*Myb* family transcription factor family などが含まれていた。

e グループには Auxin regulated protein や Ribosomal protein の他に、光合成に関連したタンパク質遺伝子が非常に多く含まれていた。

この他に病原抵抗性関連遺伝子が各クラスター

に含まれていたが、c や d など発現が上昇していくグループには 1 個しか含まれていなかった。a および b グループに含まれていたのは TIR、TIR-NBS、cc-NBS-LRR 型のものだったのに対し、e グループには TIR-NBS-LRR 型が含まれていた。

(5) 既知のリン酸飢餓応答遺伝子発現の変化

リン酸飢餓応答が知られている主な遺伝子の発現を調べたところ、Ribonuclease 遺伝子 *RNSI*、含硫脂質合成酵素遺伝子 *SQD1* および *SQD2*、リン酸トランスポーター遺伝子 *AtPT2* はマクロアレイ解析の結果と同様に発現が誘導されていた(補助データ 2 および、表 12)。しかし、水耕栽培したシロイヌナズナでリン酸飢餓応答性を調べた Wu ら(2003)らの結果では、*AtPT2*の発現誘導は起きていなかった。今回の結果で、*AtPT2*は 2 種類のアレイにおいて 24 時間リン酸飢餓処理区から強く発現が誘導されていた。従って、本実験で行ったリン酸飢餓処理により、リン酸の吸収増大を行う特異的応答(Wykoff ら 1998)が誘導されていることが示唆された。

(6) 光合成に関連した遺伝子の発現変化

光合成に関連した遺伝子の発現変化は 48 時間飢餓処理区で顕著であり、マクロアレイと同様に抑制されている傾向にあった。発現変化が 0.5 倍以下となった 468 遺伝子について細胞内移行性予測プログラム TargetP による分類を行ったところ、葉緑体移行性を有するものは 36.8 %含まれていた(表 10)。そこで MicroArray Analyzer "TRE-BAX" (Kanaya ら 2001)による Batch Learning -SOM 解析を行った結果、これらの遺伝子の多くは 48 時間飢餓処理区で一度減少し、72 時間飢餓処理区で転写量に戻る変化パターンを示すセルに集中していた(図 26,27)。

(7) 葉緑体局在タンパク質遺伝子の発現変化

Ferro ら(2002)は、ホウレンソウ葉緑体中の可溶性タンパク質のアミノ酸配列を同定し、シロイヌナズナゲノム上の相同遺伝子の同定あるいは推定を行った。彼らが報告した葉緑体包膜や内外膜、ストロマに局在する 53 個のタンパク質 (1 個は plastid) のうち、マイクロアレイ中には 48 個の遺伝子が含まれていた(表 11)。解析の結果から、48 時間リン酸飢餓処理区で発現量が低下しているものが認められた。影響が最も顕著だったのは、ストロマに存在していると予測された遺伝子であった。この他にも、内膜に存在する物質輸送に関連した遺伝子で発現低下が起きていた。この中には At3g26570.1 (現在 *PHT2*) というリン酸トランスポーター(putative)が含まれていた (表 11)。

(8) マイクロアレイ解析の結果得られたリン酸飢餓誘導遺伝子

リン酸飢餓処理により転写量が 5 倍以上増加した遺伝子が 70 個得られた(表 12)。この中には、リン酸欠乏応答性が報告されている *RNSI*, *SQD1*, *SQD2*, *AtPT2*, *MDG2* が含まれていた。また、デンプン合成や糖の代謝に関連した遺伝子、リン酸ホメオスタシスに関与する *ATACP5* 酸性フォスファターゼ遺伝子(delPozo ら 1999)、新規なトランスポーター (At1g73220.1)、アニオン交換タンパク (At4g23700.1, At3g44920.1) などが含まれていた。また、酵母の *PHO81* と共通の *SPX* ドメインを持つ *Ids4*-related 遺伝子も含まれていた。この他には、Glutathione transferase やキチナーゼ等の糖分解酵素が多く含まれていた。その他には機能の未知なものが 20 個含まれていた。

6) リン酸飢餓応答による解糖系代謝関連遺伝子発現への影響

Theodorou ら(1993)はリン酸飢餓に対する適応

として、ATP や Pi 等を媒介とした酵素反応系に代わり、解糖系代謝におけるバイパス経路が誘導されることを報告している。そこで、解糖系に関与する遺伝子(候補)の発現変化について調べたところ、ショ糖からフラクトースへの分解と、3-ホスホグリセルアルデヒドまでの経路ではバイパス(図 28)経路の活性は認められなかった。これに対し、ホスホエノールピルビン酸(PEP)からオキサロ酢酸(OAA)を合成するホスホエノールピルビン酸脱炭酸酵素遺伝子(PEPCase)の転写量は増加していた。PEPCase と推定される At3g14940.1 は 48 時間において 2.89 倍に上昇し、同じく At2g42600.1 は 24 時間リン酸飢餓処理区において 2.5 倍に上昇していた。OAA から PEP を合成する PEPC kinase や、PEP からピルビン酸を合成するピルビン酸キナーゼ(PK)も 48 時間リン酸飢餓処理区で同等の発現上昇が認められた。しかし、OAA からリンゴ酸を合成するリンゴ酸脱水素酵素遺伝子(*MDGD*)は変化が認められなかった。ミトコンドリアにおけるリンゴ酸合成酵素遺伝子(NADP *malic enzyme*)や、OAA からクエン酸を合成するクエン酸合成酵素遺伝子(Citrate synthase)は 40%程転写が増加していた。Wu ら(2003)の行ったリン酸欠乏処理では、解糖経路でのバイパス発現は認められていなかった。*AtPT2* の誘導が起きなかったことと考え合わせると、彼らとは異なるリン酸飢餓応答が起きているものと推察された。

7) カルビン回路に関与する遺伝子発現への影響

リン酸欠乏に適応して、エネルギー消費量を抑制するために光合成が抑制されることが知られている(Natr 1992)。葉緑体では ATP 合成が行われていることが知られており、特にリン酸の欠乏が代謝に影響することが予想されたため、カルビン回路に関与する遺伝子の転写量の変化を調べた。この結果、RuBisCO 遺伝子(RuBPCase)の活性は 48 時

間飢餓処理区においてほぼ半分に低下していたが、RuBPCase の小サブユニット遺伝子 (At5g38410.1, At5g38420.1, At1g67090.1, At5g38430.1) では、24 時間飢餓処理区で発現が上昇 (1.38-2.88 倍) してから 48 時間飢餓処理区で減少していた。この他、グリセルアルデヒド-3-リン酸脱水素酵素遺伝子やセドヘプツロースビス脱リン酸酵素遺伝子などが同様に 48 時間飢餓処理区において 1/3 程度に発現低下していた。このことから、リン酸飢餓が葉緑体の活性を低下させたことが明らかとなった (図 29)。

2-2-4 考 察

マクロおよびマイクロ cDNA アレイ法により、シロイヌナズナに予測された全遺伝子 25,498 個 (AGI 2000) の 86.5 % に相当する遺伝子について、リン酸飢餓に対する応答性を調べた。この結果、リン酸の吸収増大を行う特異的な反応 (Wykoff ら 1998) や、リン酸の再循環の利用に関する遺伝子転写レベルでの応答が明らかとなった。さらに、葉緑体内のチラコイド膜を構成する糖脂質合成遺伝子や光合成産物の合成遺伝子の転写量が増加する一方で、光化学反応系の構成タンパク質遺伝子などの多くは 48 時間で一度減少し、72 時間で転写量が復帰するパターンを示した (図 26, 27)。

リン酸輸送に関する遺伝子 (三村ら 2003) の転写量は、細胞内へのリン酸を輸送する *Phl1* 型トランスポーター 8 個の内の 6 個が、48 時間リン酸飢餓処理以降に 2 倍以上に増加した。特に *AtPT2* (*Phl1*: 4) は、24 時間リン酸飢餓処理の時点で 10 倍に増加した。Wu ら (2003) の研究では *AtPT2* の発現誘導が起こらなかったが、彼らの行った水耕栽培では養分を定期的に供給していたのに対し、本実験の液体培養系は養分供給を行っていないので、リン酸飢餓処理を開始した時点で液胞に貯蔵

されていたリン酸量に違いがあったか、液体培養した影響が液胞の構造に及んでいたことも推察される。葉緑体へのリン酸トランスポーター *Phl2* は、48 時間リン酸飢餓処理区で転写量が約 50 % に低下し、ミトコンドリアへのリン酸トランスポーター *Phl3*: 2 (At3g48850.1) は、48 時間リン酸飢餓処理区のみ 5 倍に増加した (表 12)。これらのことから、リン酸の欠乏に対してリン酸の輸送が選択的に行なわれており、細胞内への輸送や他の細胞 (成長部位) へは積極的にリン酸を輸送するが、葉緑体へは輸送が抑制されていることが遺伝子転写レベルの解析結果から推察された (図 30)。

リン酸トランスポーターの転写量が減少している葉緑体では、光合成に関連した遺伝子の転写に対するリン酸飢餓の影響が認められた。葉緑体への移行が予測される遺伝子について、糖の生合成に関与するデンプン合成酵素遺伝子 (At1g32900.1: starch synthase putative) や、ショ糖リン酸合成酵素遺伝子 (At4g10120.1: sucrose-phosphate synthase-like protein)、G-6-P トランスポーター遺伝子 (At1g61800.1: glucose-6-phosphate/phosphate-translocator precursor putative) の転写量は 5 倍以上に増加した (表 12)。Ciereszko ら (2001) はリン酸転流に関する突然変異 *pho1* および *pho2* を利用して、リン酸欠乏時の植物体における炭水化物量の変化を調べ、リン酸欠乏時の葉ではグルコースとデンプン量が増加し、ショ糖が減少したことを報告している。今回の結果は、リン酸欠乏に応答してリン酸の再循環利用が促進され、光合成産物が増加するという彼らの説と一致した。チラコイド膜を構成するリン脂質の代替となる含硫脂質の合成遺伝子 (*SQD1*, *SQD2*) や、糖脂質合成遺伝子 *MGD3* (Awai ら 2001) は 5 倍以上に転写量が増加し、*MGD2* (At5g20410) の転写量が約 2 倍に増加した。しかし *DGD* 遺伝子に関しては、*DGD2* 遺伝子がリン酸欠乏により強く誘導され

るという Kelly ら(2002)の報告とは異なり転写量は変化しておらず、*DGDI*(At3g11670) が 2 倍に増加していた(補助データ 2)。今回の培養系では炭素源としてショ糖を加えており、糖代謝にも影響がでていると推察されることから、*DGD2* の転写を制御する何らかの物質の蓄積が影響したのかもしれない。最近ではメタボロミクスが発達しており、リン酸飢餓時に植物体内で起きる代謝産物の変化を調べることも今後必要であろう。

植物体内のリン酸分子の不足を補う応答(Theodorou 1993)も転写レベルで起きていた。解糖系において PEP から OAA への変換を行う PEPCase 遺伝子の転写量が約 3 倍に増加した。OAA から PEP を合成する PEPC kinase 遺伝子や、PEP からピルビン酸を合成する PK 遺伝子の転写量も増加していたことは、TCA サイクルを活性化する反応が転写レベルでは起きることを示唆しているのかもしれない。PEPCase による OAA の合成では二酸化炭素分子が取り込まれることから、TCA サイクルにおいて不足するクエン酸を補うものと考えられている。リン酸飢餓によって根からクエン酸の放出が起これ、TCA サイクルの活性が低下するのを防ぐ機構が働いているのかもしれない。リンゴ酸脱水素酵素や、NAD 依存性リンゴ酸酵素の転写量には大きな変化は認められなかったが、この 2 つの酵素蛋白はリン酸飢餓時に誘導されることが知られていることから、転写産物が常時多量に存在しているため飢餓処理の影響が起きなかったと推察された。

対照区の違いが遺伝子の転写量の解釈に影響した例がマイクロアレイ実験において複数見られた。*MGDG* や *SQD12* など、明らかにリン酸飢餓応答性が報告されている遺伝子の転写量の変化が対照区の違いで数十倍も異なった(表 11)。この結果は、リン酸飢餓処理を開始した時点で既にリン酸欠乏に対する応答が始まったことを示唆する。並行無処理区ではリン酸が再び与えられた結果、リン酸飢

餓処理を開始した時点で起きていた転写量の変化が抑制され、リン酸飢餓処理区との転写量の変化が増幅されたと推察された。従って、無処理区と並行無処理区との比較において、転写量の変化に大きな違いが見られた遺伝子ほど、リン酸飢餓処理に対して敏感な応答性を持つ遺伝子と推察された。

マイクロアレイから得られたリン酸飢餓応答遺伝子の転写変化に SOM による分類を用いたところ、パターンが類似する遺伝子の詳細なクラスターリングを行うことができた。今回は、20×20 のセルに対して 1,497 個の遺伝子を分類したが、リン酸飢餓応答遺伝子はほぼ全域のセルに分散しており、転写の変化パターンも複雑であることから、これまでに知られていないリン酸代謝への応答性が今回の解析により得られたと考えられる(図 26)。この結果、葉緑体への移行性シグナルを持つと予測された遺伝子の多くは 48 時間区で減少するセルに集まっており、SOM による分類が効果的に行われていることを示唆している(図 27)。

2 種類の DNA アレイ解析を比較した結果から、マイクロアレイとマイクロアレイでは転写量の変化のレンジが異なっていた。遺伝子転写量の減少に関して、マイクロアレイの値がマクロアレイに比べて約 10 倍小さかった。このことは、マイクロアレイでは転写量が 1/5 倍以下に減少した遺伝子が 2 個しかなかったことから明らかである。これは、アイソトープを使用するマクロアレイ解析と蛍光色素を使用したマイクロアレイ解析の検出感度の違いか、マイクロアレイで行った mRNA の増幅によって発現レベルの低い遺伝子の転写量にバイアスが起きたためと推察される。

今回の解析結果から解った興味深い遺伝子の一つに、*ids4-like protein*(At5g20150)があった。この遺伝子は、鉄欠乏に応答して特異的な発現をする遺伝子としてオオムギで単離された *Ids4* 遺伝

子 (Yamaguchi ら 2000) と相同性を持つ。NCBI においてタンパク質ドメイン検索を行った結果、酵母の *PHO81* と相同性を有しており、リン酸センサー機能を持つと予測されている *SYG1*, *PHO81*, *XPRI* と共通な *SPX* ドメインが含まれていることが解った。*PHO81* はサイクリン依存型キナーゼ阻害因子としてリン酸飢餓時に誘導され、*PHO80/PHO85* 複合体を不活性化し、酸性フォスファターゼ *PHO5* の発現を誘導する (Lenburg, ME と O'Shea, EK 1996)。しかし、*ids4-like protein* 遺伝子は全長が 256aa と *PHO81* (1,179aa) に比べて短く、サイクリン依存型キナーゼの阻害に働くと予測されている *ankylin* 反復配列は含まれていない。*ids4-like gene* は、リン酸飢餓処理に応答して、24 時間処理区において転写量が 17 倍に増加したが、そのホモログである At2g26660 は 48 時間処理区で 2 倍程度の増加であった。

サイクリンドメインを有し、*PHO80* との相同性を持つ At3g63120 (putative protein) は、マクロアレイによる解析では *ids4-like protein* 遺伝子の転写量の増加と対照的に 72 時間飢餓処理後に 1/10 に減少し、酵母のリン酸吸収制御系のモデルとよく一致していた (Ogawa ら 2000)。しかし、マイクロアレイの結果ではこのような傾向は認められなかった。Hamburger ら (2002) はシロイヌナズナにおけるリン酸転流変異体である *PHO1* 遺伝子の解析を行い、At3g23430 を同定した。この遺伝子は G-protein 結合型の細胞表層レセプターと相同性が高く、*SPX* ドメインを持っていた。At3g23430 はマクロアレイにのみ含まれており、その発現は 48 時間の処理区で 2 倍程に上昇していた。しかし、*PHO1* のホモログである At1g26730.1 (putative aldehyde oxidase) および At1g35350.1 (unknown protein) は、リン酸飢餓に対して特異的な転写量の変化は認められなかった。*SPX* ドメインがリン酸欠乏に応答する機構は不明であるが、植物におけ

るリン酸吸収機構に関与する因子の特徴であろう。

ゲノム生物学的手法により、リン酸の転流機構に関する突然変異体 (Poirier ら 1993) や、亜リン酸を利用した飢餓処理 (Varadarajan ら 2002)、低リン酸応答性の異なるアクセッションにおけるリン酸飢餓応答遺伝子を同定することは、リン酸利用機構の解明に関する手掛かりを与えるだろう。モデル植物であるシロイヌナズナでは、多数のタグラインや人為的な遺伝子発現システムを利用して遺伝子の機能解析を行うことが可能であるので、植物のリン酸利用を制御するための分子メカニズムの解明が進むと予想される。

2-2-5 図および表



図 17. 液体回転培養したシロイヌナズナ(21 日目の植物体の様子)

左はリン酸飢餓処理培地 (Pi:10 μ M)、右は標準リン酸培地 (Pi:1 mM)

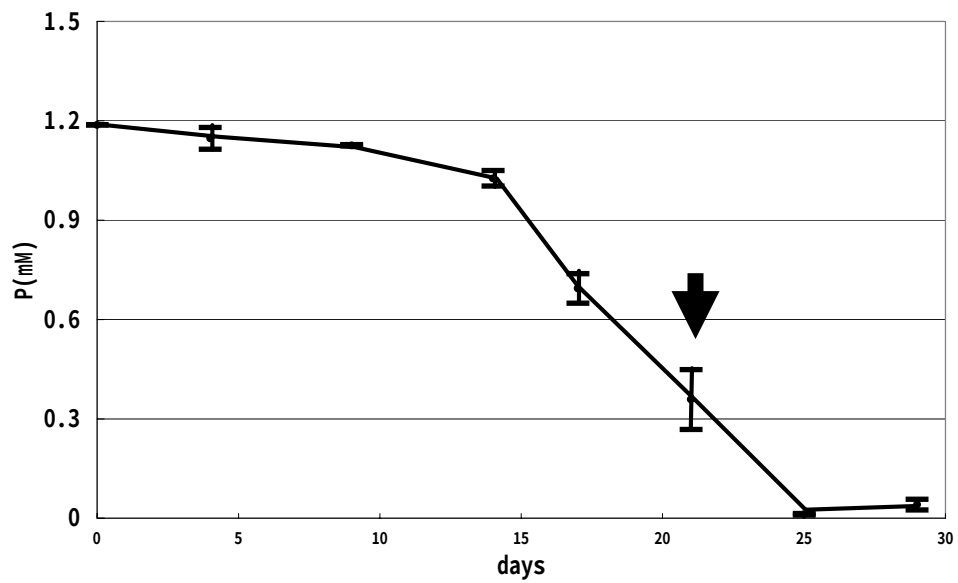


図 18. 液体回転培養日数と培地中の残存リン濃度の変化

矢印はリン酸飢餓処理を行った 21 日目を示す

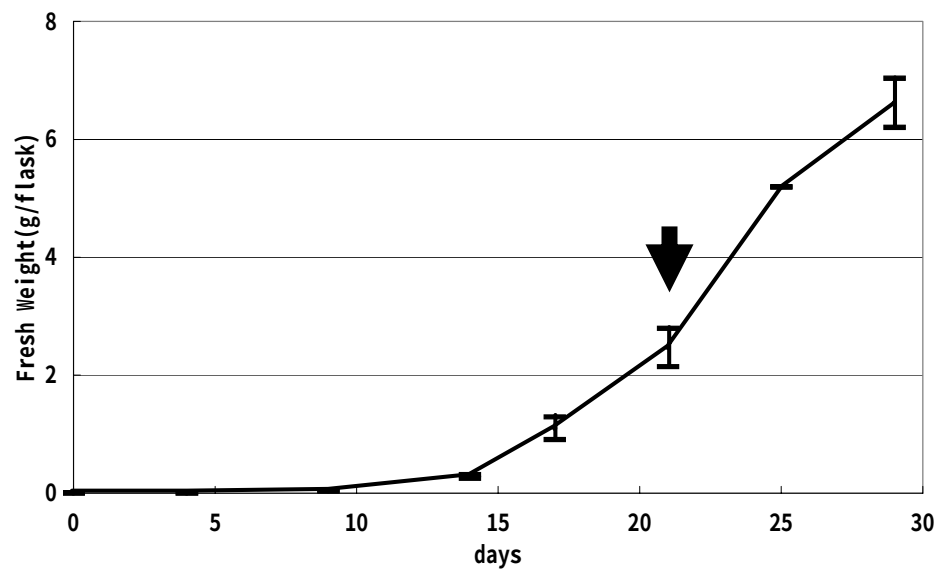


図 19. 液体回転培養日数と植物体重量（新鮮重）の変化

矢印はリン酸飢餓処理を行った 21 日目を示す

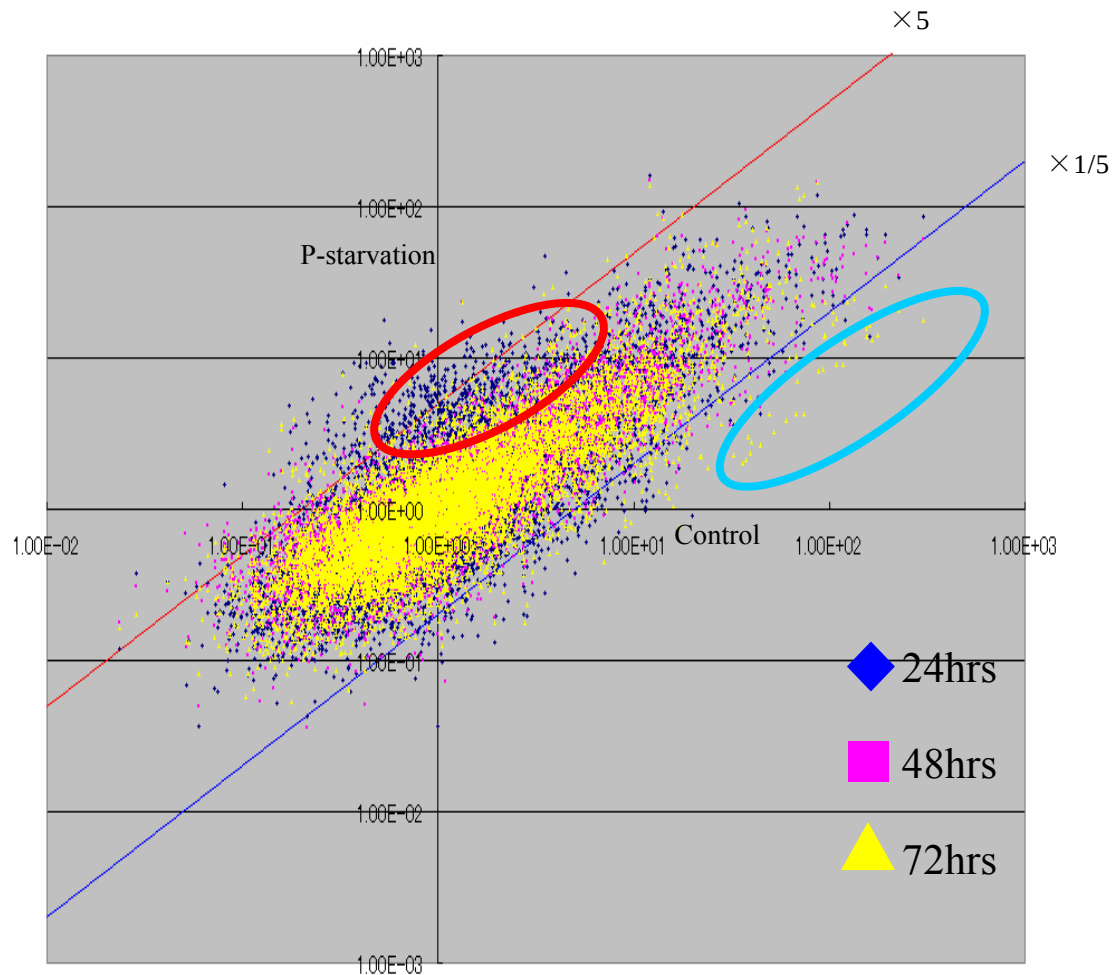


図 20. マクロアレイによるリン酸飢餓応答遺伝子発現解析結果

9,764 個のリン酸飢餓処理における遺伝子発現量を無処理区と比較した。赤い楕円には 24 時間処理区で誘導された遺伝子が多く含まれている。青い楕円の囲みには 72 時間処理区で抑制された遺伝子が多く含まれている。

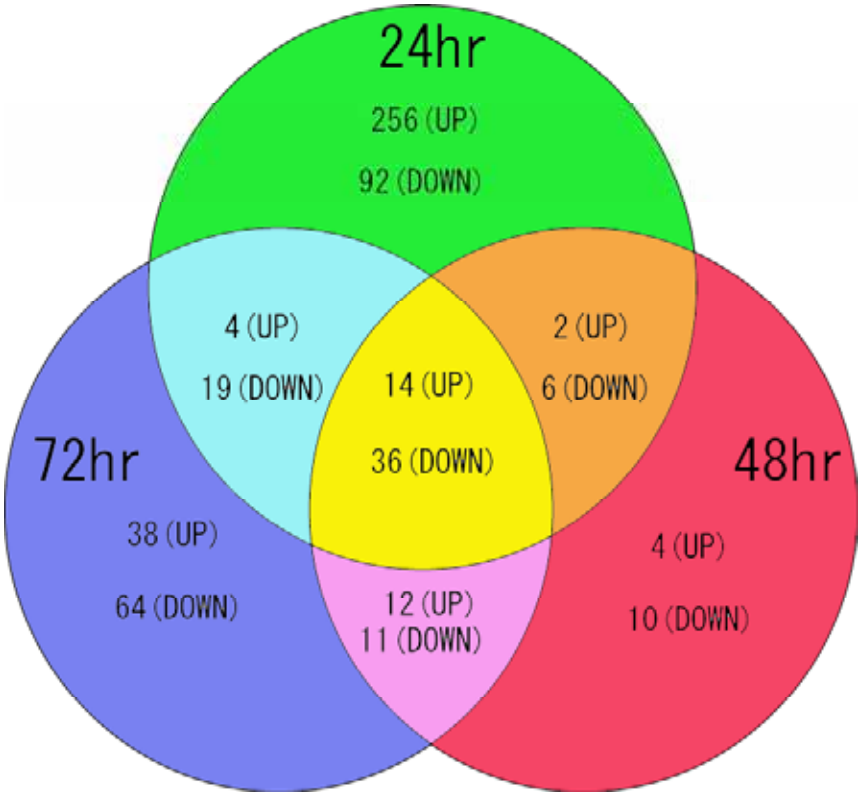


図 21. マクロアレイ法によるリン酸飢餓処理応答性遺伝子数と処理時間との関係

UP および DOWN はそれぞれ無処理区に対して 5 倍以上あるいは 1/5 倍以下の転写量の変化を示した遺伝子を意味する。

補助データ 1: リン酸飢餓応答性遺伝子の発現量リスト

AGI name	DART annotation	Target P	annotation from MIPS,TIGR,NCBI	JCAA No.	24hr	48hr	72hr
At1g73010	hypothetical protein		acid phosphatase	08601A	24.51	14.41	23.57
At2g02990	putative ribonuclease, RNS1	s		11903B	22.17	12.76	7.47
AT3g02030	hypothetical protein	c	phospholipid/glycerol acyltransferase family	08206C	18.20	8.65	6.93
AT5g03350	putative protein	m		13710H	17.00	8.14	8.99
AT5g20150	ids4-like protein		phosphate regulator like (SYG1,pho81,XPR1)	03111F	15.75	9.33	11.63
AT3g04720	hevein-like protein precursor (PR-4)	s		02108F	13.42	12.23	11.45
At1g05360	unknown protein		vacuole transmembrane protein (6 of transmembrane domain)	09208D	12.97	17.47	17.48
AT4g36850	putative protein		Somatotropin, prolactin and related hormones signature, 5TM	02802F	12.79	9.21	8.15
AT5g47050	putative protein		S-ribonuclease binding protein	04302A	11.81	5.12	6.64
AT4g10120	sucrose-phosphate synthase - like protein			13903F	6.76	5.13	7.30
AT5g04800	40S ribosomal protein S17 -like	m		06408C	6.65	5.91	5.94
AT3g09940	putative monodehydroascorbate reductase (NADH)			06503B	6.15	12.25	17.99
AT3g03150	unknown protein			04503H	5.60	5.58	5.27
AT5g20580	putative protein			13605D	5.09	7.00	6.06
At1g06430	cell division protease FtsH,						
AT5g14840	putative protein	c		02806G	15.32	5.20	4.98
	pyroline 5-carboxylate reductase??			05707F	5.41	6.36	4.46
AT3g44260	CCR4-associated factor 1-like protein						
At1g73540	unknown protein		zinc finger protein,transcription factor	05702E	2.19	18.66	21.97
AT5g01220	putative protein	c	mutI protein AP2/EREBP-like transcription factor	06309B	2.89	13.88	9.54
	AR781, similar to yeast pheromone receptor		sulfolipid synthase SQD2	08305E	3.69	12.69	7.82
At2g26530	putative c2h2 zinc finger transcription factor	c		02406F	4.56	11.45	23.48
AT5g04940	putative chitinase	s		06507D	3.05	10.40	9.98
AT4g19810	unknown protein	c	glycosyl hydrolase family 18	06909B	3.95	7.13	6.26
At1g17740	putative nematode-resistance protein		Phosphoglycerate dehydrogenase	13810G	2.32	6.98	5.60
At2g40000	putative protein		Hslpro-1-like receptor(G.max),resistant gene motif	08307E	0.92	6.76	11.01
AT5g51190	putative protein			06310F	1.71	6.73	7.70
At1g22930	unknown protein		Caldesmon conserved domain	03408E	1.97	5.86	6.94
At1g19180	unknown protein	c	Pto responsive gene1(34%),flowering protein	05706G	3.08	5.67	9.84
AT4g37610	putative protein		CONSTANS(33%)				
At1g01470	putative embryo-abundant protein		AR781like membrane lipoprotein lipid attachment site	00308C	4.52	5.25	8.12
	hexose transporter - like protein		putative desiccation related protein (LEA14)	05607H	8.06	4.59	7.02
AT2g41380	putative embryo-abundant protein			06305C	9.09	4.47	6.63
AT5g26340	phosphate transporter (AtPT2)			02612A	6.34	2.74	5.30
AT2g38940	hypothetical protein			10308B	6.49	3.73	5.01
AT3g04740	centromere protein homolog			02512G	33.77	2.11	1.96
AT4g14760	putative glucosyl transferase		CELL DIFFERENTIATION	06702B	28.15	3.63	2.91
AT2g26790	putative protein		carbon metabolism related	02706G	25.03	2.27	2.54
AT4g26060	putative FCA-related protein		TM2	05705G	23.77	4.27	2.67
At2g47310	ubiquitin, putative		flowering control protein	06609H	22.37	1.69	1.27
At1g19640	putative CHP-rich zinc finger protein			06602H	21.48	1.28	1.47
AT4g01910	hypothetical protein			06402F	19.99	2.37	2.11
At1g27480	hypothetical protein		lecithin-cholesterol acyl transferase [Prunus du	02604E	19.17	2.65	2.46
AT2g14850	putative protein			02610G	19.13	3.34	2.69
AT4g20940	mRNA export protein, putative	c	leucine rich repeat protein family	04205H	18.46	2.45	0.64
At1g00670	ethylene-responsive element binding factor, putative			06102G	17.99	2.58	1.94
At1g28370	predicted protein of unknown function		EREBP, AP2 domain,pyridoxal phosphate-binding domain	06801A	17.26	2.80	2.43
AT4g01880	hypothetical protein			02512H	16.82	1.24	0.84
AT2g39320	hypothetical protein		Contains similarity to Glycine SRC2	06304C	16.09	1.81	1.08
AT3g01860	non-phototropic hypocotyl-like protein			12807B	15.65	1.22	0.85
AT5g48800	palmitoyl-protein thioesterase precursor-like	s	photoreceptor-interacting protein - like	06001A	15.52	1.53	1.36
AT5g47350	putative protein			12408C	15.31	2.36	1.52
AT3g03090	putative protein		ATP/GTP-binding site motif A (P-loop)	02510A	14.67	1.39	1.21
AT3g06260	unknown protein			11302B	14.60	1.74	2.02
At1g55230	unknown protein			02512E	14.56	2.65	2.60
At2g27140	growth regulator, putative	c	stress response,heat shock protein	06109C	14.36	3.15	1.92
AT3g5510	putative protein	m		03608F	13.92	1.65	1.08
AT3g53970	unknown protein	s	proteasome inhibitor, putative	06302G	13.67	2.75	2.48
At2g25510	unknown protein			03310E	13.60	0.98	1.78
At1g09360	putative protein			03811D	13.56	0.73	0.85
AT5g42950	putative protein			07701F	13.49	1.34	1.36
AT5g19680	putative protein		LRR domain	09701E	13.28	1.16	1.60
AT4g30720	putative protein	c		04912C	13.23	1.40	1.49
AT3g03210	putative protein	c	senescence-associated protein SAG102 (G1::22331931)	02606B	12.63	1.59	2.13
At2g39550	putative geranylgeranyl transferase type I beta subunit			06005A	12.59	1.96	1.39
At1g77640	hypothetical protein	c	TINY-like protein,AP2domain transcription factor	02402G	12.25	3.61	2.69
AT5g16810	hypothetical protein		probable dextranucrase	02702F	12.24	1.62	1.38
At1g39340	unknown protein		predicted protein destination factor	01811E	11.96	1.35	1.11
AT5g13190	putative protein			06705F	11.96	1.76	1.71
AT5g19630	putative protein			06202E	11.79	2.29	1.49
AT5g50120	putative protein		transducin / WD-40 repeat protein family	06706A	11.77	2.96	2.36
AT4g18170	DNA binding-like protein		WRKY family transcription factor	01907H	11.54	1.29	1.45
AT5g18060	auxin-induced protein-like	s		01812G	11.47	1.40	1.36
AT4g29100	putative protein		putative bHLH transcription factor	06801H	11.29	1.55	1.85
At1g67820	protein phosphatase, putative	c	putative serine/threonine phosphatase type 2c [S	13603G	11.29	3.87	2.86
AT5g59720	heat shock protein 18		18.2 kDa class I heat shock protein	02206B	10.95	2.13	1.70
AT3g24880	hypothetical protein		Myb DNA-binding domain repeat signatures	02102G	10.94	3.61	2.95
AT4g14150	kinesin like protein	c	p-loop,motor domain protein	02709A	10.79	1.83	1.07
At1g64050	unknown protein		protein-tyrosine kinase,Myb 120?	05803G	10.73	1.36	1.16
AT4g05490	N7 -like protein	c	F-box protein family,nodulin development	01905G	10.55	3.04	2.49
At2g42900	unknown protein			11602D	10.54	1.92	1.35
AT4g30080	transcription factor-like protein		aux response factor	06206A	10.48	3.70	3.92

AGI name	DART annotation	Target P	annotation from MIPS,TIGR,NCBI	JGAA No.	24hr	48hr	72hr
At1g68470	hypothetical protein		exostosin gene family, sulphur metabolism?	07002G	10.33	2.18	1.68
At4g32430	putative protein		probable selenium-binding protein	07008E	10.27	4.01	2.45
At3g48810	putative protein	s	sugar transporter 2 (Drosophila) 11TM	05808H	10.27	0.91	0.72
At2g28680	unknown protein	c	copper-binding protein family	02111F	10.05	2.27	2.35
At4g37310	cytochrome P450-like protein	s		01807H	9.80	3.23	3.87
At2g41810	unknown protein	s	1TM	06912C	9.80	1.44	0.88
At1g68840	putative sterol desaturase	s		06410F	9.66	1.05	1.08
At1g74950	unknown protein			06608B	9.64	0.91	0.95
At5g47750	protein kinase (EC 2.7.1.37) 5 (pir JN0505)	c		11107A	9.52	1.07	1.35
At5g42530	unknown protein	s	1TM	03205G	9.49	0.81	0.89
At4g27690	carbohydrate kinase - like protein			10009H	9.40	0.89	0.80
At3g59490	fructokinase-like protein			06303G	9.33	1.15	1.03
At2g45160	putative SCARECROW gene regulator			02001E	9.30	1.76	1.50
At5g02420	putative protein		?	04403D	9.29	3.43	3.17
At1g15280	unknown protein	m	protein kinase	02609G	9.28	2.96	2.12
At4g15780	hypothetical protein		monooxygenase 1 (M01), putative, SA?	01111G	9.27	0.85	0.70
At5g15830	bZIP DNA-binding protein-like			05903C	9.20	1.85	1.60
At3g18650	hypothetical protein		Aminoacyl-transfer RNA synthetases class-II signatures	08404H	9.16	1.36	1.25
At1g70180	hypothetical protein	m	contains similarity to arginine/serine-rich protein	05906E	9.13	4.00	4.01
At5g58150	receptor-like protein kinase	s		07007E	9.11	1.42	1.15
At1g49880	glutathione S-transferase, putative	s		05908E	9.10	2.61	1.11
At3g50480	hypothetical protein	s		01810B	9.08	2.16	2.10
At1g58200	unknown protein		strong similarity to mechanosensitive (MS) ion channel	01709C	9.06	1.66	1.52
At5g55970	putative protein	c	C3HC4-type zinc finger protein family	13511F	8.93	1.79	2.28
At1g64550	ABC transporter protein, putative			05912C	8.91	0.89	1.17
At1g58150	unknown protein	m		02904G	8.81	2.75	1.58
At1g30800	hypothetical protein, 5 partial		putative hydrolase	06208H	8.74	1.89	1.70
At3g45970	putative protein	s	2TM, pollen allergen, expansin like precursor (92%)	02002C	8.70	2.30	3.16
At3g12280	retinoblastoma-related protein	s		10407H	8.69	1.86	1.33
At4g17250	hypothetical protein		NADH2 dehydrogenase (ubiquinone) 6TM?	07001B	8.67	2.19	2.30
At3g57300	helicase-like protein			03903B	8.58	1.14	1.16
At5g38990	protein kinase - like protein	s		04011B	8.46	0.80	1.04
At1g72120	oligopeptide transporter, putative	m		02509F	8.42	2.03	1.98
At4g28590	isp4 like protein			00104B	8.34	2.42	2.73
At3g15820	unknown protein	c	phosphatidic acid phosphatase (PAP2)-related	02508A	8.33	1.95	1.81
At2g30490	hypothetical protein	m		08906H	8.17	3.59	3.96
At3g60130	beta-glucosidase-like protein	m		06301E	8.14	1.32	1.94
At5g35170	adenylate kinase - like protein			01410H	8.14	1.04	0.70
At1g14480	hypothetical protein		putative ankyrin-repeat-containing protein, 4TM	05803H	8.10	1.97	1.83
At5g38930	unknown protein		8TM, metal transporter?	02109C	8.06	1.48	1.12
At1g31590	ORF1, putative	s	1TM	09906H	8.05	0.71	2.16
At5g17340	unknown protein	s	1TM	05802F	8.00	1.79	1.99
At4g12980	putative protein	s		13407A	8.00	0.93	0.60
At1g01630	polyphosphoinositide binding protein, putative			05407E	7.90	0.91	0.66
At5g68420	putative protein			06512A	7.88	1.08	1.17
At5g40190	putative protein		calmodulin-binding protein	06105D	7.84	2.31	1.41
At1g55740	seed imbibition protein, putative						
At1g60990	hypothetical protein	c	glycosyl hydrolase family 36	13910F	7.77	0.95	0.68
At1g23200	putative pectinesterase	s	similar to aminomethyltransferase	10102F	7.73	0.88	0.72
At1g17200	unknown protein			12612D	7.72	0.98	0.83
At5g24770	vegetative storage protein Vsp2	s	integral membrane protein common family, 4 TM	02002H	7.69	1.07	0.54
At3g60840	putative protein			14003F	7.68	2.54	4.35
At3g60840	non phototropic hypocotyl 1-like	c	symbiosis-related protein	07006G	7.66	1.57	1.26
At5g58140	putative protein			02307F	7.65	0.99	0.91
At3g59530	putative protein		heavy-metal-associated domain-containing protein	14108D	7.60	2.21	2.17
At2g28690	putative nitrate transporter			08602A	7.60	2.18	2.11
At2g48650	unknown protein			02706H	7.58	1.16	0.89
At5g61380	pseudo-response regulator 1			06509A	7.57	1.65	2.02
At1g04950	TATA binding protein-associated factor, putative			01702A	7.57	1.91	2.09
At3g51100	putative protein			05806H	7.57	1.09	1.74
At3g52880	monodehydroascorbate reductase (NADH) - like protein			06609C	7.54	1.29	1.09
At3g18370	unknown protein	m	unspecified signal transduction	03904B	7.54	1.23	0.80
At4g21850	putative protein		SelR domain:met sulfoxide reduction(oxidative burst stressresponse)	06508F	7.52	2.61	3.53
At1g47710	serpin, putative		serine protease inhibitor	05805E	7.43	1.04	0.81
At1g10850	receptor kinase, 3 partial		leucine-rich repeat transmembrane protein kinase, putative	04112C	7.40	1.07	0.64
At2g15890	unknown protein	c		01806B	7.40	2.00	3.19
At5g55780	transcription regulator Sir2-like protein			06002A	7.37	1.17	0.81
At3g16740	unknown protein		F-box protein family	06810C	7.36	1.63	1.23
At3g25780	unknown protein	c	allene oxide cyclase family, ERD12 like	06504A	7.23	1.64	1.98
At3g03990	unknown protein		esterase/lipase/thioesterase family	06612E	7.21	2.13	2.56
At4g32220	hypothetical protein		RNase H domain-containing protein	06506H	7.21	1.03	1.21
At3g46680	glucosyltransferase-like protein	m		02606H	7.18	1.51	1.62
At5g47180	VAMP (vesicle-associated membrane protein)-associated protein-like			05905H	7.12	1.54	1.38
At5g35580	serine threonine protein kinase-like			06405G	7.11	2.12	1.82
At4g28650	putative protein			00304A	7.10	2.02	1.68
At3g51910	putative heat shock transcription factor			06601E	7.08	1.96	2.75
At1g24050	unknown protein		ATP/GTP binding motif(p-loop)	06712H	7.05	0.89	1.08
At4g29330	putative protein 6TM		putative NADH oxidoreductase complex I subunit	04412A	7.04	0.56	0.81
At4g39300	sulfolipid biosynthesis protein SOD1	c		12912E	7.04	3.19	2.13
At4g24930	hypothetical protein	c	thylakoid lumenal 17.9 kDa protein, chloroplast precursor	02705H	7.02	1.67	1.56

ゲノム生物学的手法による植物のリン酸応答機構に関する研究

AGI name	DART annotation	Target P	annotation from MIPS,TIGR,NCBI	JCAA No.	24hr	48hr	72hr
At5g61360	putative protein			06803B	6.97	2.76	1.89
At1g22770	putative gigantea protein			01811G	6.93	1.04	1.08
At5g48030	DnaJ protein-like	m		07703G	6.91	1.02	0.81
At2g35790	unknown protein	m	2TM	06109B	6.89	0.96	0.77
At3g15430	unknown protein		regulator of chromosome condensation	02604F	6.88	3.36	3.22
At2g49770	putative splicing factor	c	transducin / WD-40 repeat protein family	02102F	6.87	2.21	1.94
At3g12800	unknown protein	m	MutT/hudix family protein,Contains similarity to AP2/EREBP-like transcrip	05712A	6.85	1.40	1.51
At2g16650	hypothetical protein	c		06111B	6.84	1.29	1.04
At5g25760	putative protein		ubiquitin-conjugating enzyme, putative	13711C	6.82	1.88	1.62
At5g13070	putative protein	m	protein targeting, sorting and translocation	05811D	6.78	1.27	1.19
At3g03200	putative protein		patatin-related,latex allergen	02208E	6.77	0.92	1.04
At2g03740	hypothetical protein			13006H	6.73	1.81	1.67
At1g01710	acyl CoA thioesterase, putative	m		04806F	6.69	2.63	2.26
At5g64010	unknown protein			06406E	6.67	2.06	1.64
At5g66010	putative protein	m	heterogeneous nuclear ribonucleoprotein (hnRNP), putative	06611G	6.66	1.99	2.36
At5g04200	putative protein		1TM	04305H	6.65	3.22	2.36
At1g26450	hypothetical protein	s	beta-1,3-glucanase	06511H	6.64	0.98	0.72
At3g28000	hypothetical protein			06711G	6.63	1.43	1.48
At3g49540	hypothetical protein			04503F	6.59	2.60	2.08
At5g16380	putative protein			06502E	6.53	2.30	1.97
At2g41290	putative strictosidine synthase	s		06807B	6.49	2.20	1.87
At1g08490	unknown protein	c	3-ISOPROPYLMALATE DEHYDROGENASE [Schizosaccharom	02612F	6.46	1.20	1.04
At2g32010	putative inositol polyphosphate 5-phosphatase			03712H	6.45	1.06	0.82
At3g56440	putative protein		WD-40 repeat protein family,Histidine acid phosphatases active site	06906F	6.45	2.24	1.34
At1g24560	putative myosin heavy chain			13601A	6.44	0.95	1.61
At4g05150	putative protein		octicosapeptide/Phox/Bem1p (PB1) domain-containing protein	10812B	6.42	0.99	1.01
At4g15410	phosphatase like protein		putative phosphatase 2A regulatory chain [Arabid	02210B	6.40	1.25	1.91
At5g42050	putative protein	m		05906H	6.38	3.11	4.42
At4g12060	putative protein	c	ClpC mRNA	13403B	6.36	1.20	1.11
At1g01430	hypothetical protein			04504G	6.36	4.93	3.61
At2g49570	endochitinase isolog	s		13506E	6.34	4.24	4.59
At1g66180	unknown protein	s	Eukaryotic and viral aspartyl proteases active site	06506B	6.34	1.97	1.69
At3g22520	unknown protein		protein kinase C (PKC) domain motif	02205A	6.27	1.32	1.44
At4g27580	putative protein	m	Ca binding protein , split from At4g27580	06008B	6.27	3.35	2.29
At3g09260	thioglucoisidase 3D precursor			02504H	6.24	1.42	1.37
At2g27820	putative chorismate mutase						
At2g27820	prephenate dehydratase	c		02304D	6.22	1.07	1.14
At2g41800	unknown protein	s		05902A	6.21	1.75	1.31
At1g74440	hypothetical protein		similar to YGL010w-like protein ,4TM	01605H	6.20	0.92	0.65
At1g58410	disease resistance protein, putative			06003C	6.17	1.34	0.75
At3g14820	putative cytochrome P450	s		12512A	6.17	1.32	1.88
At4g27650	pelota (PEL1)			06512H	6.17	0.82	0.58
At5g20050	receptor-like protein kinase - like protein	s		02309E	6.15	0.97	1.16
At3g51600	non-specific lipid transfer protein	s		02812G	6.14	2.40	0.74
At2g34710	homeodomain transcription factor (ATHB-14)			03707F	6.13	1.64	1.69
At2g36430	hypothetical protein			00707F	6.12	1.77	1.05
At4g14370	disease resistance N like protein			06501F	6.12	2.31	2.03
At3g44880	lethal leaf-spot 1 homolog Lls1	c		02002E	6.08	2.75	2.88
At2g26560	similar to latex allergen from Hevea brasiliensis		patatin domain,lipid acyl hydrolase	02505A	6.05	4.90	4.76
At1g06230	Ring3-like bromodomain protein			13307D	6.00	1.11	1.33
At4g01020	putative protein		RNA-dependent ATPase/helicase (cdc28)	02401D	6.00	1.34	1.17
At1g27900	ATP-dependent RNA helicase, putative			06403B	5.98	1.16	0.77
At2g46080	unknown protein			02112G	5.96	0.66	0.72
At2g40760	unknown protein	m	rhodanese-like family protein	06405C	5.95	3.52	3.26
At1g55350	n-calpain-1 large subunit, putative			02704C	5.94	1.35	1.28
At1g65820	glutathione-s-transferase, putative	s		03004B	5.94	2.28	2.50
At3g05730	unknown protein	s		03204G	5.93	2.46	1.15
At1g70800	unknown protein		similar to zinc finger and C2 domain protein	02505F	5.89	1.94	1.18
At3g22300	putative 40S ribosomal protein S10	c		05901E	5.89	1.23	1.02
At1g59840	hypothetical protein	m		08005A	5.88	1.02	0.56
At1g75370	sec14 cytosolic factor, putative	m		02512A	5.87	1.26	0.91
At2g24270	putative NADP-dependent glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase			00607E	5.85	1.33	0.93
At2g34690	unknown protein			05711F	5.82	1.81	1.97
At2g38090	unknown protein		tetratricopeptide repeat (TPR)-containing protein	02212B	5.82	1.15	1.25
At2g42120	putative DNA polymerase delta small subunit			11911D	5.76	1.68	1.55
At1g67030	zinc finger protein(ZFP6)		At1g67035	06211G	5.75	0.86	1.32
At2g29450	putative protein kinase	s	receptor like protein kinase	06309A	5.75	1.50	1.46
At5g42220	putative protein	s	ubiquitin family	05906F	5.73	1.80	1.74
At5g12980	putative protein		CELL DIFFERENTIATION PROTEIN RCD1	07603C	5.70	0.91	0.48
At3g15950	unknown protein	s	AC037424 myosin-like protein	06308H	5.69	3.41	4.51
At2g04760	pseudogene, tubulin beta chain			06708G	5.69	1.00	0.96
At2g22330	putative cytochrome p450			02611B	5.68	1.43	1.52
At3g48700	putative protein		similar to cold-adapted lipase	00106D	5.67	1.67	1.69
At5g46150	putative protein		membrane protein common family	02801A	5.65	1.55	1.33
At3g56310	alpha-galactosidase-like protein	s		06305F	5.63	1.55	1.60
At1g79850	30S ribosomal protein S17, chloroplast precursor (CS17)	c		04310C	5.62	1.88	2.84
At1g79670	putative wall-associated kinase 4,	s					
At4g37520	peroxidase, prxr2	s		01707H	5.60	1.34	0.64
At1g29950	unknown protein		aux regulated protein	01710E	5.59	3.30	4.42
At2g44350	citrate synthase			06402G	5.59	1.89	1.94
				11802B	5.58	1.34	1.85

ABI name	DART annotation	Target P	annotation from MIPS,TIGR,NCBI	JCAA No.	24hr	48hr	72hr
At1g28940	hypothetical protein		2TM	04206F	5.57	0.90	0.54
At2g37080	putative myosin heavy chain	c		12510B	5.54	1.23	1.08
At5g08870	polygalacturonase inhibiting protein	s		09912F	5.54	3.18	3.94
At5g38530	tryptophan synthase beta chain	c		02503D	5.50	2.01	1.85
At5g10780	putative protein			06302F	5.50	3.03	2.36
At1g04440	putative casein kinase I			06808H	5.47	1.06	1.12
At1g72320	putative RNA-binding domain			03611A	5.44	1.03	0.78
At2g31070	unknown protein		TOP family transcription factor	02508C	5.42	1.92	1.46
At1g08420	protein serine threonine phosphatase alpha, putative			04204C	5.39	1.10	0.96
At4g02290	putative endo-1,4-beta glucanase	s		06605B	5.39	1.23	0.90
At3g01640	unknown protein		GMP kinase family,ATP binding protein	06508B	5.37	1.71	1.20
At2g39390	unknown protein		Prenyl group binding site (CAAX box)	06811H	5.37	0.77	0.79
At5g04370	beta-ureidopropionase			02506H	5.36	1.88	1.93
At1g04440	unknown protein		Kelch repeat containing F-box protein family	00207A	5.35	1.09	2.36
At2g45040	putative metalloproteinase	s		08701H	5.35	0.81	0.77
At1g22050	unknown protein		ubiquitin family, Prenyl group binding site (CAAX box)	02411H	5.33	0.36	0.29
At5g58480	beta 1-3 glucanase - like protein	m		07006D	5.33	1.81	1.19
At2g21280	unknown protein			01509G	5.32	1.65	0.87
At2g24560	unknown protein			05806C	5.32	3.09	4.19
At1g08650	putative calcium-dependent protein kinase (U90439)			02203H	5.31	3.19	3.93
At1g25290	unknown protein		membrane protein, Rhomboid family,2TM	13406B	5.30	1.64	1.35
At1g08030	unknown protein		similar to L-allo-threonine aldolase (D87890)	13504B	5.30	2.59	2.39
At5g52450	putative protein		MATE efflux protein - related,12TM	06407B	5.30	1.59	1.53
At4g24130	putative protein			06509B	5.29	1.04	0.89
At5g58570	putative protein	s		05907E	5.28	3.35	3.29
At5g19430	putative protein		C3HC4-type zinc finger protein family	09501A	5.27	3.33	3.33
At1g38610			leucine rich repeat protein family	02502A	5.27	1.83	1.31
At1g64370	unknown protein			03112G	5.26	1.75	3.13
At1g78990	unknown protein		motor protein	02506C	5.26	1.24	1.23
At1g16760	unknown protein			13409A	5.26	1.58	0.79
At2g25670	hypothetical protein		hydrolase	05812B	5.25	0.93	0.73
At3g07800	putative thymidine kinase			06505E	5.20	1.39	1.09
At1g55020	lipoxigenase, putative			06502A	5.18	2.36	3.17
At1g20220	unknown protein	s	glycine-rich protein	02708B	5.18	2.70	2.84
At3g54740	putative protein		motor protein	12501D	5.16	1.65	1.60
At2g38480	unknown protein		transporter like protein,8TM	12801E	5.16	1.79	1.34
At5g08200	hypothetical protein			06512F	5.15	1.45	1.40
At3g08190	dynammin-like protein 4 (ADL4)			02212E	5.13	1.45	1.21
At3g04780	putative ribose 5-phosphate isomerase	c		09508D	5.13	3.27	4.86
At5g45480	putative protein		8TM	03902E	5.13	0.81	0.61
At1g74210	putative glycerophosphodiester phosphodiesterase	m		12111G	5.10	4.17	2.19
At3g08070	unknown protein	m		06601F	5.10	1.32	1.54
At3g01090	putative SNF1-related protein kinase			06407A	5.10	2.00	1.64
At4g37910	heat shock protein 70 like protein	c		10108G	5.09	1.25	1.81
At2g39190	putative ABC transporter	c		03907B	5.09	1.00	0.92
At3g20920	hypothetical protein	c	3TM	02602E	5.07	1.52	1.48
At2g25140	putative ATP-dependent CLPB protein			13707H	5.07	1.56	1.27
At5g41750	disease resistance protein-like	m		06607H	5.07	1.02	1.36
At3g15210	ethylene responsive element binding factor 4 (AtERF4)			01203G	5.06	1.44	1.66
At1g55910	hypothetical protein	s	Zn transporter, putative (ZIP11),8TM	01003G	5.01	1.62	1.52
At1g15020	thioredoxin, putative	s		04802G	5.00	1.61	1.89
At5g20410	monogalactosyldiacylglycerol synthase		mitochondria ,tyroid hormone receptor interactor4	12310H	4.20	7.32	3.99
At5g11670	NADP dependent malic enzyme - like protein			00304H	1.37	6.96	4.03
At4g28780	hypothetical protein			07908D	1.24	6.61	4.59
At4g34710	arginine decarboxylase SPE2		arginine decarboxylase SPE2 alkaloid synthesis start	02805F	1.28	5.45	3.12
At3g28240	putative protein	c	chloroplast lumen common protein family	00105D	3.31	4.91	12.18
At5g48170	putative protein		F-box domain protein	04706G	2.13	3.33	11.04
At1g30780	putative reticuline oxidase-like protein, 3 partial	s		10805H	2.43	3.14	9.98
At4g32480	putative protein		oublin(intrinsic factor-cobalamin receptor)	11308A	4.49	4.53	9.47
At5g58870	putative protein	s	predicted GPI-anchored protein. 1TM	04406C	1.84	4.17	9.09
At3g10980	unknown protein		wound induced protein?	05607D	2.80	4.40	7.94
At2g38850	putative farnesylated protein 4-methyl-5(b-hydroxyethyl)-thiazole monophosphate			11501C	2.78	3.91	7.84
At3g14890	biosynthesis protein, putative			00406C	1.52	1.89	7.78
At2g20410	hypothetical protein	m	tyroid hormone receptor interactor4 (transcription coactivatorASC-1)	09210E	4.44	4.60	7.58
At4g34150	putative protein		elicitor responsive gene,Ca2+ dependent lipid binding protein	05802E	2.20	3.67	7.29
At4g01430	predicted protein of unknown function		DUF6 domain transmembrane protein (10TM)	13510E	4.39	4.49	7.21
At3g24520	heat shock transcription factor HSF1, putative			06201F	2.37	4.78	6.86
At5g48180	putative protein		kelch domain, jasmonate inducible protein,lectin	00601E	2.11	2.37	6.68
At5g58080	cucumis precursor - like	s		07602G	1.81	2.13	6.60
At3g48360	putative protein		BTB motif (Zinc finger motif?) CREB binding protein (38%)	08608B	1.70	2.34	6.39
At5g03680	AALP protein	s		08201H	4.03	4.11	6.34
At2g24540	putative dioxigenase		2-oxoglutarate-dependent dioxigenase, putative	00408A	2.64	2.92	6.20
At5g41720	putative protein		F-box protein family	13703E	0.98	1.06	6.15
At5g01600	DNA binding protein - like,ethylene responsive			09311H	1.42	4.53	6.10
At3g18960	myosin	c	AP2 domain transcription factor, putative	09306D	2.59	3.84	6.02
At3g15630	unknown protein	c	truncated cis-retinol/3 alpha-hydroxysterol short chain dehydrogenase(chloroplast)	07102A	1.53	2.58	5.90
At4g12550	putative cell wall-plasma membrane disconnects CLCT protein (AIR1A)	s		05808G	2.53	1.72	5.82
At2g34550	putative gibberellin 2-oxidase			05710G	2.10	3.29	5.70
At3g08880	putative aminotransferase	m		11601C	3.42	1.66	5.56

ゲノム生物学的手法による植物のリン酸応答機構に関する研究

AGI name	DART annotation	Target P	annotation from MIPS,TIGR,NCBI	JCAA No.	24hr	48hr	72hr
At4g33440	putative protein	s	polysialuronase like	07112B	2.15	2.13	5.47
At4g11820	drought-inducible cysteine proteinase RD21A precursor - like protein	s	targeted to mi,AAAtype ATP ase ,aspiration related	04210B	0.79	4.96	5.32
At3g50930	BCS1 protein-like protein	s		06703B	1.50	4.92	5.28
At4g17500	ethylene responsive element binding factor 1 (frameshift !)			05703A	1.37	3.89	5.28
At1g27290	unknown protein	m	2TM	05905C	2.40	4.65	5.24
At3g07510	glycine-rich protein	s		05109B	1.14	3.01	5.19
At3g08450	unknown protein,transporter		anion exchange protein family,8TM	05503C	2.08	3.54	5.18
At2g35930	unknown protein			06705G	1.27	3.61	5.15
At1g65770	hypothetical protein		F-box protein family	09401B	4.31	4.54	5.14
At4g00780			Meprin And TRAF-Homology (MATH) domain	03308H	1.96	3.21	5.12
At2g33830	putative auxin-regulated protein			01605D	1.75	2.12	5.09
At2g30950	putative ftsH chloroplast protease	c		03202A	1.53	3.28	5.09
At3g49120	peroxidase	m		07902B	1.95	2.64	5.09
At3g46100	histidyl-tRNA synthetase	m		06311D	1.50	3.58	5.05
At2g28350	unknown protein		B3(plant transcription factor family),auxine responsive	05005H	0.20	0.17	0.07
At5g47100	calcium sensor protein, calcineurin-like		calcineurin B	08811F	0.20	0.20	0.16
At2g33060	putative leucine-rich repeat disease resistance protein	s		09807D	0.19	0.19	0.10
At5g39880	putative protein	s	P-loop,ATP/GTP binding motif	05210G	0.18	0.16	0.08
At1g53270	hypothetical protein		putative ABC transporter,6TM, P-loop	14110A	0.18	0.13	0.08
At3g63120	putative protein,Sk34 (PREG-like protein)/リン酸利用制御		cyclin domain, PHO80 - cyclin	01212B	0.18	0.10	0.09
At5g60890	Mvb transcription factor homolog (ATR1)						
At3g58600	putative protein		P-loop,two SANT domain	01306D	0.17	0.16	0.06
At2g25840	putative transcription elongation factor S-II			13701E	0.17	0.17	0.18
At1g47270	putative Tub family protein	c	TFS2M domain	03711H	0.17	0.14	0.09
At4g34030	putative protein	m	tub domain,F-box	08906B	0.17	0.16	0.17
At4g14410	hypothetical protein		3-methylcrotonyl-CoA carboxylase non-biotinylated subunit	11606D	0.16	0.15	0.17
At2g26480	putative glucosyltransferase	m	putative bHLH transcription factor,vacuole-ATPase subunit	01008E	0.16	0.16	0.09
At1g67090	ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase, putative	c		08804E	0.15	0.15	0.19
At5g63930	histidinol dehydrogenase	c		07412C	0.15	0.15	0.09
At1g55960	membrane related protein CP5, putative	c		08004A	0.15	0.17	0.15
At5g14570	high affinity nitrate transporter - like protein	c		01306E	0.14	0.16	0.06
At3g17610	hypothetical protein	c	10TM, sugar transporter domain	02011F	0.14	0.18	0.15
At5g03180	putative protein	s	At3g17615.1? Split?	01511G	0.13	0.13	0.06
At5g42930	ubiquitin-conjugating enzyme-like protein	c	1TM, unspecified signal transduction,kinase?	08412F	0.13	0.16	0.15
At2g23070	putative casein kinase II catalytic (alpha) subunit	c	UBC domain,proteasome mediated degradation,cell viability	04601D	0.13	0.17	0.12
At3g07775	proline oxidase, mitochondrial precursor (osmotic stress-induced proline dehydrogenase), 5 partial			06009G	0.12	0.13	0.06
At1g01280	cytochrome P450, putative	s		04412E	0.12	0.12	0.09
At4g17470	putative protein	s	1TM, palmitoyl thioesterase precursor or lipase domain	10010E	0.12	0.18	0.19
At1g18490	unknown protein	s		03504C	0.11	0.13	0.08
At4g18070	putative protein			08509C	0.11	0.11	0.05
At1g15500	adenine nucleotide translocase, putative	m		01307D	0.11	0.15	0.07
At4g05400	putative protein		11TM, TLC domain (ATP/ADP transporter)	05107A	0.11	0.16	0.10
At4g26140	putative disease resistance protein	s		08401A	0.11	0.20	0.16
At1g62510	protease inhibitor/seed storage/lipid transfer protein (LTP) family		1TM, P-loopx2, TMV resistance protein like	10506B	0.10	0.15	0.06
At2g45190	unknown protein						
At5g35210	putative protein		1TM, extensin like,HyPRP	02904C	0.10	0.15	0.12
At3g25520	PHD finger protein - like		putative YABBY3 axial regulator	03103C	0.10	0.11	0.06
At3g06910	putative glutamate decarboxylase		PHD finger transcription factor, putative,6TM	10406H	0.09	0.13	0.12
At2g02010	hypothetical protein		transcription factor,TFS2M domain	04108F	0.08	0.10	0.13
At2g36980	hypothetical protein		similar to sentrin/SUMO-specific protease	05210D	0.08	0.13	0.10
At3g21290	putative protein						
At4g15390	putative thioesterase, putative	c		01302A	0.08	0.17	0.15
At1g08510	NMMU2 - 2S albumin 2 precursor	s	myb family transcription facto	10811B	0.07	0.10	0.09
At2g19110	putative cadmium-transporting ATPase			09112E	0.19	0.07	0.30
At3g51740	putative protein(receptor like)	s	transferase,phytoalexine synthase related?	07307E	0.18	0.18	0.26
At1g03000	putative laccase (diphenol oxidase)	s					
At2g29130	nucleotide diphosphate kinase [a (emb CAB58230.1)]	c		08411B	0.14	0.18	0.27
At5g63310	multiubiquitin chain binding protein (MBP1)			09708B	0.13	0.18	0.26
At4g38830	14-3-3 protein, putative		metal ion-dependent adhesion sites	07511F	0.30	0.19	0.20
At1g87750	endochitinase, putative	s	endonuclease,growth factor signalling	07204A	0.25	0.18	0.17
At2g39870	putative protein			01511H	0.35	0.18	0.15
At1g11840	putative protein		similar to Mybst1,SANTdomain(two)	02810H	0.45	0.18	0.06
At5g14740	putative protein			04704A	0.28	0.17	0.17
At1g67050	putative thiosulfate sulfurtransferase	c	Glyoxalase domain	12612F	0.35	0.16	0.17
At5g07090	putative thiosulfate sulfurtransferase	m	autotrophicCO2-fixation.pro_CA domain	00904D	0.22	0.14	0.08
At1g16460	beta tubulin 1, putative			08412A	0.31	0.11	0.13
At5g44280	putative receptor-like protein kinase			10206C	0.20	0.30	0.09
At2g07040							
At1g16460	putative thiosulfate sulfurtransferase		RHOD domain,Rhodanase	01401B	0.19	0.22	0.16
At1g20010	putative protein		GTPase,cell division	07107G	0.19	0.31	0.16
At5g44280	putative protein		zinc finger like protein	10012A	0.18	0.24	0.17
At2g07040	putative receptor-like protein kinase			09811E	0.18	0.33	0.20

AGI name	DART annotation	Target P	annotation from MIPS,TIGR,NCBI	JCAA No.	24hr	48hr	72hr
At1g34470	unknown protein		9TM, purine permease - related	02009F	0.17	0.23	0.18
At4g01000	putative protein		pre mRNA splicing factor PRP9	10107D	0.17	0.21	0.16
At3g09100	putative mRNA capping enzyme, RNA guanylyltransferase			10303A	0.16	0.30	0.20
At3g27690	putative chlorophyll A-B binding protein	c		01607D	0.16	0.24	0.06
At1g61560	ribosomal protein	m		11708G	0.15	0.28	0.17
At1g43850	unknown protein	c	SEUSS transcriptional co-regulator	03406H	0.15	0.23	0.18
At1g13270	methionine aminopeptidase I (MAP1), putative	c		00705C	0.15	0.28	0.20
At3g45240	serine threonine-protein kinase-like protein			01303E	0.15	0.21	0.10
At2g46960	putative cytochrome P450	s		13003A	0.14	0.30	0.19
At5g54190	NADPH:protochlorophyllide oxidoreductase A (gb AAC49043.1)	c		04808D	0.14	0.43	0.20
At2g13940	putative N-acetyl-gamma- glutamyl-phosphate reductase	m	Semi aldehyde_dh domain(two)	00704A	0.13	0.25	0.19
At5g37540	putative protein	c	nucleoid DNA-binding protein cnd41	08708A	0.11	0.28	0.18
At3g52930	fructose biphosphate aldolase - like protein			01207B	0.10	0.34	0.14
At5g10830	squamosa promoter binding protein-like 7		1TM, early flower development regulator	03607C	0.07	0.21	0.17
At5g52470	fibrillarin-like	m		08903A	0.20	0.40	0.47
At5g10230	annexin -like protein			13504H	0.20	0.47	0.33
At2g32600	putative spliceosome associated protein			05510D	0.20	0.69	0.62
At5g13420	transaldolase - like protein	c		10301G	0.20	0.36	0.34
At4g03100	putative rac GTPase activating protein			09101F	0.20	0.29	0.61
At5g02490	dnak-type molecular chaperone hsc70.1 - like			01506D	0.20	1.41	1.04
At3g14900	hypothetical protein	c		01601B	0.20	0.32	0.71
At5g61780	100 kDa coactivator - like protein			10510G	0.20	0.42	0.34
At2g43010	putative transcription factor BHLH9		Myc-type, 'helix-loop-helix' dimerization domain signature	00912A	0.20	0.40	0.26
At3g49400	hypothetical protein	c		04005D	0.20	0.29	0.33
At5g28900	protein phosphatase 2A regulatory subunit B-like protein			04909F	0.20	0.25	0.31
At1g50380	ribosomal protein, putative cold-regulated protein cor15a precursor			08107C	0.20	0.40	0.35
At2g42540	heat shock cognate 70kD protein	c		08706B	0.19	0.45	0.28
At3g09440	3-methyladenine DNA glycosylase, putative			01312C	0.19	0.46	0.36
At1g75230	putative DNA-binding protein	c		02907C	0.19	0.37	0.47
At3g61310	putative fructose-bisphosphate aldolase	c	transcription control ,DUF296domain	01203H	0.19	0.74	0.25
At4g38970	type 1 membrane protein, putative			00504A	0.19	0.40	0.27
At3g24160	putative protein	s		00810A	0.19	0.45	0.53
At5g08140	ASH1-like protein 1 (ASH1)		SET-domain transcriptional regulator family	09703A	0.19	0.26	0.38
At1g76710	60S acidic ribosomal protein P2	s		04907G	0.19	0.60	0.57
At2g27710	unknown protein			06905E	0.19	0.30	0.22
At5g47940	lactate dehydrogenase (LDH1)	c		01205B	0.19	0.46	0.37
At4g17260	ribosomal protein			07610D	0.19	0.26	0.30
At1g43170	unknown protein			08309D	0.19	0.61	0.57
At1g48110	putative protein kinase		similar to ATM/K1	03610G	0.19	0.24	0.20
At3g01490	putative phragmoplastin		similar to dynamin-like protein phragmoplastin	00209G	0.18	0.32	0.42
At1g10290	polyubiquitin (ubq3)	c		04108D	0.18	0.43	0.50
At5g09240	putative protein		putative inhibitor of apoptosis	00207D	0.18	0.46	0.57
At4g03000	CCR4-ASSOCIATED FACTOR -like protein			04006E	0.18	0.30	0.22
At5g10960	receptor-like serine threonine kinase, putative			04804H	0.18	0.65	0.83
At1g07650	HD-Zip protein, Athb-9	s		03609A	0.18	0.25	0.22
At1g30490	putative protein		merozoite surface protein 2 (MSP-2)	09309D	0.18	0.34	0.33
At3g43160	putative diphenol oxidase	s		09107F	0.18	0.37	0.44
At2g38090	putative lipid transfer protein	s		05003C	0.18	0.31	0.28
At4g08670	putative Eukaryotic initiation factor 4A			09807E	0.18	0.23	0.28
At1g72730	cellulose synthase catalytic subunit			06205F	0.18	0.62	0.39
At5g09870	reversibly glycosylated polypeptide-1			04209C	0.18	0.47	0.28
At3g02230	putative cucumis protease			07207H	0.18	0.33	0.41
At4g00230	myrosinase-binding protein			09104H	0.18	0.36	0.24
At1g52040	homolog, putative			03405E	0.18	0.40	0.60
At4g29240	extensin-like protein	s		09709G	0.18	0.37	0.24
At1g07260	UDP-glucose glucosyltransferase, putative			07506F	0.17	0.38	0.32
At1g11670	unknown protein		MATE efflux protein family,12TM	07510D	0.17	0.64	0.92
At3g53750	actin (ACT3)			01502H	0.17	0.41	0.24
At2g38290	unknown protein	c	α/β hydrolase putative	00206H	0.17	0.20	0.34
At2g36880	putative s-adenosylmethionine synthetase			07706C	0.17	0.33	0.28
At1g54020	myrosinase-associated protein, putative	s		04811G	0.17	0.73	0.37
At3g05940	unknown protein	s	6TM,	13304G	0.17	0.27	0.24
At3g56510	putative protein		TBP-binding protein, putative,mRNA synthesis	01505B	0.17	0.28	0.20
At1g52400	beta-glucosidase, putative	s		04809D	0.16	0.28	0.43
At2g31250	putative glutamyl tRNA reductase	c		11208B	0.16	0.80	0.39
At2g31370	bZIP transcription factor (POSF21)	c		08405F	0.16	0.25	0.29
At5g23240	putative protein	c		02210C	0.16	0.32	0.40
At5g09510	ribosomal protein S15-like			06802D	0.16	0.31	0.29
At1g04410	putative malate dehydrogenase			13203F	0.16	0.43	0.30

ゲノム生物学的手法による植物のリン酸応答機構に関する研究

AGI name	DART annotation	Target P	annotation from MIPS,TIGR,NCBI	JCAA No.	24hr	48hr	72hr
At1g70850	major latex protein (MLP149), putative			00305B	0.16	0.56	0.65
AT4g17520	nuclear RNA binding protein A-like protein			01003D	0.16	0.31	0.36
AT3g13160	hypothetical protein	m	mit,PPR domain(two), RNAstability?	00610C	0.16	0.21	0.21
At1g76100	plastocyanin	c		04903E	0.16	0.72	0.29
AT5g44340	tubulin beta-4 chain (sp P24636)			07012G	0.15	0.80	0.73
At1g16810	arginine/serine-rich protein	c	Rna binding domain,Arg/Ser rich protein	06011C	0.15	0.22	0.30
AT5g09880	splicing factor-like protein			03403B	0.15	0.30	0.72
At1g26220	unknown protein	c		10004D	0.15	0.38	0.55
AT5g39080	acyltransferase -like protein similar to axi 1 protein from			01202F	0.15	0.32	0.31
At2g44500	Nicotiana tabacum			07205H	0.15	0.29	0.32
At2g33100	putative cellulose synthase	c		10211C	0.15	0.29	0.26
At1g23740	putative auxin-induced protein	c		00207H	0.15	0.23	0.31
AT3g12110	actin, putative			04505F	0.14	0.55	0.31
At1g39250		c	fringe-related protein	02410F	0.14	0.33	0.30
AT3g14230	DNA-binding protein		AP2 domain protein RAP2.2	04411G	0.14	0.84	0.83
AT3g14415	putative glycolate oxidase, 3 partial			04502C	0.14	0.41	0.41
AT3g08900	putative reversibly glycosylatable polypeptide			13304H	0.14	0.57	0.35
AT4g26150	putative transcription factor		GATA zinc finger protein	01407H	0.13	0.23	0.26
AT4g26530	fructose-bisphosphate aldolase - like protein			01412C	0.13	0.32	0.31
At1g07130	unknown protein	m	OB-fold nucleic acid binding domain-containing protein	02704A	0.13	0.48	0.69
At2g30580	unknown protein		WRKY family transcription factor	05507D	0.12	0.32	0.22
At1g81520	PSI type III chlorophyll a b-binding protein, putative	c		03507C	0.12	1.11	0.74
At1g43930	mutator-like transposase, putative	m		10811E	0.11	1.57	1.99
AT3g57620	putative protein	s	galactose oxidase precursor	05412E	0.11	0.20	0.23
AT5g24210	putative protein		lipase (class 3) family	00109D	0.11	0.74	0.47
At1g72790	unknown protein		2TM,proline-rich extensin domains	07909D	0.11	0.27	0.27
At1g22650	putative invertase			01102D	0.11	0.23	0.22
AT5g39060	RNA-binding protein-like		KH-domain	10903C	0.10	0.48	0.27
At1g14580	zinc finger protein, putative	c		01508D	0.10	0.35	0.34
At2g38170	high affinity Ca2+ antiporter	c		10108B	0.10	1.25	0.46
AT3g11250	60S acidic ribosomal protein, putative			07510C	0.10	0.37	0.29
At2g38650	hypothetical protein		glycosyltransferase family 8	10704G	0.10	0.30	0.29
At1g54270	eukaryotic translation initiation factor 4A, putative			11701H	0.09	0.39	0.57
AT5g43330	cytosolic malate dehydrogenase			07404G	0.09	0.49	0.25
At1g76920	hypothetical protein	c	F-box protein family (FBX3)	02202E	0.08	0.45	0.27
AT5g13930	chalcone synthase (naringenin-chalcone synthase) (lesla 4 protein) (sp P13114)			08811A	0.07	0.78	0.23
AT3g58840	putative protein		myosin ATPase?	07204B	0.0		0.93
AT3g46060	GTP-binding protein ara-3			07601E	0.4		0.26
AT3g57010	putative protein	s	strictosidine synthase domain,alkaroid synthesis	06411G	0.21	0.19	0.24
AT5g26220	putative protein		cation transporter like protein	06712E	0.52	0.19	0.23
AT3g20440	1,4-alpha-glucan branching enzyme, putative	c		10605A	0.21	0.17	0.27
At1g80820	cinnamoyl CoA reductase, putative			08904E	0.21	0.17	0.21
AT5g03930	translation elongation factor eEF-1 alpha chain (gene A4)		p-loop ,protein synthesis	00306G	0.68	0.16	0.54
AT3g09200	putative 60S acidic ribosomal protein, 5 partial			07006H	0.86	0.16	0.41
At1g70060	hypothetical protein		signal peptidase I signature,transcriptional regulator gene	12707C	0.23	0.16	0.20
At2g02070	putative C2H2-type zinc finger protein	c		05301C	0.37	0.15	0.27
At2g20870	unknown protein		Putative cell wall protein precursor	08812F	0.24	0.15	0.27
AT3g58610	ketol-acid reductoisomerase	c	Ilvc domain(two)	03212H	0.73	0.23	0.20
AT4g09500	putative protein	s	anthocyanin rhamnosyltransferase -Petunia x hybrida	12606B	0.30	0.30	0.20
AT5g40510	sucrose cleavage protein -like		ITM	08408D	0.20	0.24	0.19
AT3g13470	chaperonin 60 beta, putative	c	cpn60_TCP1,HSP60 chaperonine family	06708D	0.43	0.51	0.19
At1g27030	unknown protein			06010A	0.41	0.61	0.19
AT4g09650	H+-transporting ATP synthase-like protein	c		03011H	0.81	0.56	0.19
AT5g38430	ribulose biphosphate carboxylase small chain 1b precursor (RuBisCO small subunit 1b) (sp P10796)	c		03004C	0.21	0.32	0.19
At2g26640	putative beta-ketoacyl-CoA synthase			08407A	0.34	0.31	0.19
AT3g03160	putative protein	c	chlloplast organization,outer envelope membrane	04301B	0.30	0.49	0.19
AT5g55560	putative protein		contains protein kinase domain	13011A	0.22	0.27	0.19
AT4g21280	photosystem II oxygen-evolving complex protein 3 - like	c		02712E	0.82	0.58	0.19
AT4g10340	chlorophyll a b-binding protein - like	c		13002F	0.44	0.50	0.19
At1g29140	hypothetical protein	s	pollen-specific protein - like	04712G	0.33	0.32	0.18
AT3g23570	unknown protein		DLH domain ,Dienelactone hydrolase family,glucanase	02510F	0.32	0.31	0.18
At2g47170	ADP-ribosylation factor 1	m	mit,ARF domain	03306B	0.66	0.36	0.18
At1g81870	unknown protein	m	pentatricopeptide (PPR) repeat-containing protein	02108G	0.40	0.45	0.18
At1g15290	unknown protein		tetratricopeptide repeat (TPR)-containing protein	02410H	0.25	0.38	0.18
AT3g05530	26S proteasome AAA-ATPase subunit RPT5a		P-loop,GTP/ATP binding motif	07508E	0.31	0.24	0.18

AGI name	DART annotation	Target P	annotation from MIPS,TIGR,NCBI	JCAA No.	24hr	48hr	72hr
AT5g15580	putative protein		tetratricopeptide repeat (TPR)-containing protein	11106H	0.37	0.26	0.18
AT3g18730	hypothetical protein, disease resistance Cf-2 like protein			13904A	0.30	0.30	0.18
AT4g08170	inositol 1,3,4-trisphosphate 5 6-kinase-like protein		cell to cell signal transduction	04107C	0.57	0.28	0.18
AT5g02540	putative protein		adh short domain,dehydrogenase family like	12910A	0.21	0.21	0.18
AT3g20670	histone H2A, putative xyloglucan endo-transglycosylase			04502A	0.42	0.33	0.17
AT3g44990	pseudogene, retroelement pol	c	polyglucan synthesis	01105D	1.35	0.52	0.17
At2g11020	polyprotein	s		12003B	0.40	0.76	0.17
AT3g18780	actin 2		mreB,sugar kinase,hsp70 super family	00904A	0.31	0.71	0.17
AT3g18130	protein kinase C-receptor G-protein, putative		WD-40repeat 4回,guanidine nucleotide binding protein	07512B	0.41	0.38	0.17
AT3g57030	putative protein	s	1TM, strictosidine synt,alkaroid synthesis	09912A	0.31	0.32	0.17
AT3g26260	cytochrome P450 monooxygenase (CYP71B4)	s	2TM, oxidative degradation YGGY domain,integral membrane protein conserved region	11701G	0.55	0.34	0.17
AT3g07430	unknown protein	c		08806E	0.22	0.22	0.17
At1g52070	jasmone inducible protein, putative		lectin domain, myrosinase binding protein	07512G	0.40	0.23	0.17
AT3g13200	unknown protein		cell cycle control protein cwf15 homolog putative	02704G	0.25	0.26	0.16
At2g34430	putative photosystem II type I chlorophyll a b binding protein	c		01512C	0.55	0.71	0.16
AT5g35630	glutamate-ammonia ligase (EC 6.3.1.2) precursor, chloroplast (clone lambdaAtgs11) (pir S18800)	c		00412H	0.33	0.25	0.16
At1g66630	hypothetical protein		SIAH1 protein [Brassica napus]	11311F	0.53	0.56	0.15
AT5g07010	steroid sulfotransferase-like protein		sulfotransfer domain	02510B	0.60	0.46	0.15
AT5g10170	myo-inositol-1-phosphate synthase -like protein		1-1-P> G-6-P	08211F	0.25	0.25	0.15
At1g79190	unknown protein		glucose-6-phosphate 1-dehydrogenase ?	01901D	0.45	0.28	0.15
AT3g26850	unknown protein			12111A	0.77	0.45	0.15
AT5g48060	phosphoribosylanthranilate transferase-like protein			10507D	0.54	0.22	0.15
At1g24020	pollen allergen-like protein		Bet_v_1:pathogenesis related protein	04310H	0.96	0.56	0.15
AT5g01820	putative protein		two of kinase domai, S_Tkc +NAF	02810B	0.65	0.35	0.14
At1g52510	hypothetical protein	c	abhydrolase domain	00812B	0.21	0.22	0.13
At1g15820	chlorophyll binding protein, putative	c	Identical to Lhcb6 protein from Arabidopsis thal	02909H	0.43	0.61	0.13
AT3g16370	putative APG protein		1TM, proline rich GDSL motif	01904E	0.43	0.65	0.13
At1g68590	unknown protein	c	plastid specific ribosomal protein3 precursor	04309C	0.64	0.34	0.13
At2g05100	putative chlorophyll a b binding protein	c		00108H	0.28	0.45	0.13
At1g09310	unknown protein			01609H	1.26	1.06	0.13
AT5g23060	putative protein	c	1TM, RHOD domain, phosphatase?family	00808F	0.26	0.41	0.13
At1g21760	unknown protein		F-box ony protein9, receptor for Ubiquitin target	08005F	0.36	0.36	0.13
AT5g66140	20S proteasome subunit PAD2 (gb AAC32059.1)	c		05104F	0.36	0.34	0.12
At1g06680	23 kDa polypeptide of oxygen-evolving complex (OEC)	c	Pspb domain,photosystemII	00612H	0.49	0.26	0.11
AT5g39960	putative protein	m	GTP binding protein ,mit,MFR_HSR1 domain	09903E	0.45	0.23	0.10
AT5g23250	succinyl-CoA synthetase, alpha subunit	m	mit,ATP-citrate lyase/succinyl-CoA ligase signature	12502G	0.32	0.25	0.10
At1g12090	hypothetical protein	s	pEARL11 like protein,1TM, extensin like protein	07011D	0.63	0.37	0.10
At2g34420	photosystem II type I chlorophyll a b binding protein	c		00201A	0.29	0.25	0.09
At1g29920	photosystem II type I chlorophyll a b binding protein, putative	c		03411H	0.43	0.36	0.09
At1g52230	photosystem I subunit VI precursor	c		00510F	0.40	0.31	0.09
AT5g05170	cellulose synthase catalytic subunit (gb AAC39336.1)	m	8TM, cellulose_synt domain	04111H	0.36	0.30	0.08
AT4g12790	putative protein		ATP binding protein domain,cell viability related,	00307F	0.27	0.26	0.08
At1g59750	auxin response factor 1		AUX_1AA domain	04406E	0.20	0.34	0.08
At2g45180	putative proline-rich protein		protease inhibitor/seed strage/LTP family	01607C	0.53	0.21	0.07
AT5g54270	Lhcb3 chlorophyll a b binding protein (gb AAD28773.1)	c		03111H	0.72	0.36	0.06
AT5g12080	putative protein		6TM, mechanosensitive ion channel domain	04510D	0.33	0.31	0.06

※ 24,48,72hr は、各リン酸飢餓処理時間区の値を0時間コントロール区の値で割った比を意味する。

カラムの色は、 5 倍以上、 1/5 倍以下に転写量が変化したことを表す。

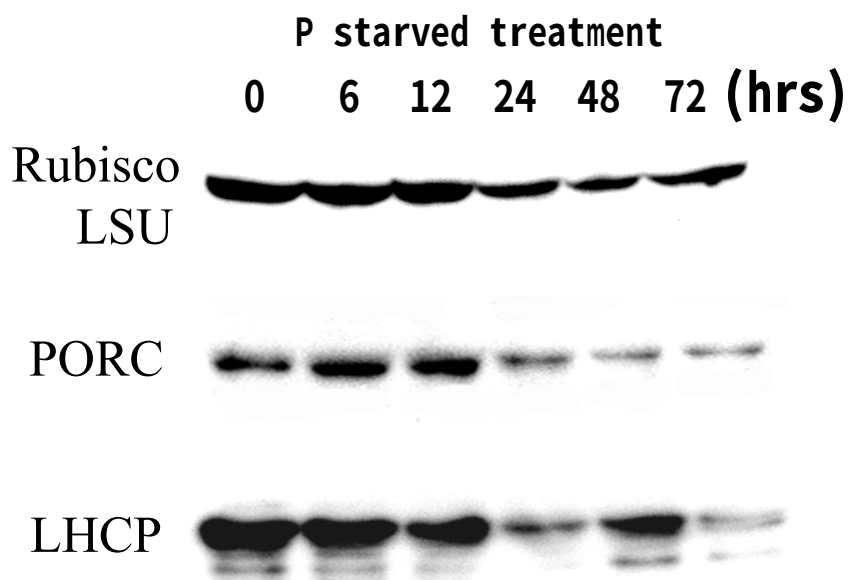


図 22. リン酸飢餓処理が光合成関連タンパク質量に与える影響

リン酸飢餓処理後の植物体から抽出した可溶性タンパク質を SDS 化し、10 μ g をポリアクリルアミド電気泳動してウェスタン法により検出を行った。

RuBisCO LSU (Large subunit protein), LHCP (Light-Harvesting Chlorophyll a/b Pigment-Protein Complex), PORC (Protochlorophyllide oxidoreductase type C)

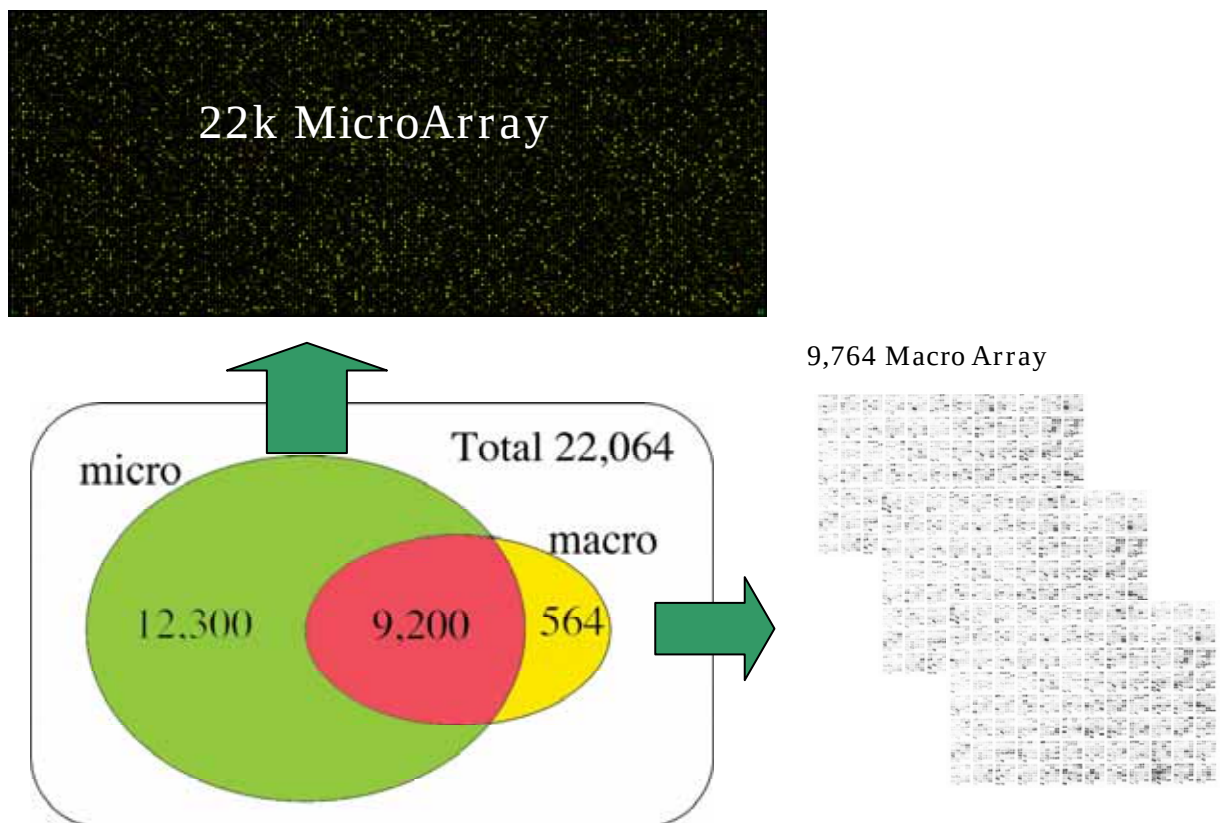


図 23. マクロアレイとマイクロアレイに含まれる遺伝子の重複関係

マクロアレイの遺伝子の 94 %がマイクロアレイに含まれていた。しかし、6 %の遺伝子はマクロアレイにのみ含まれていた。非重複に 22,064 個(シロイヌナズナの全遺伝子数の 87 %に相当)の遺伝子を対象としたゲノムワイドな発現解析を行った。

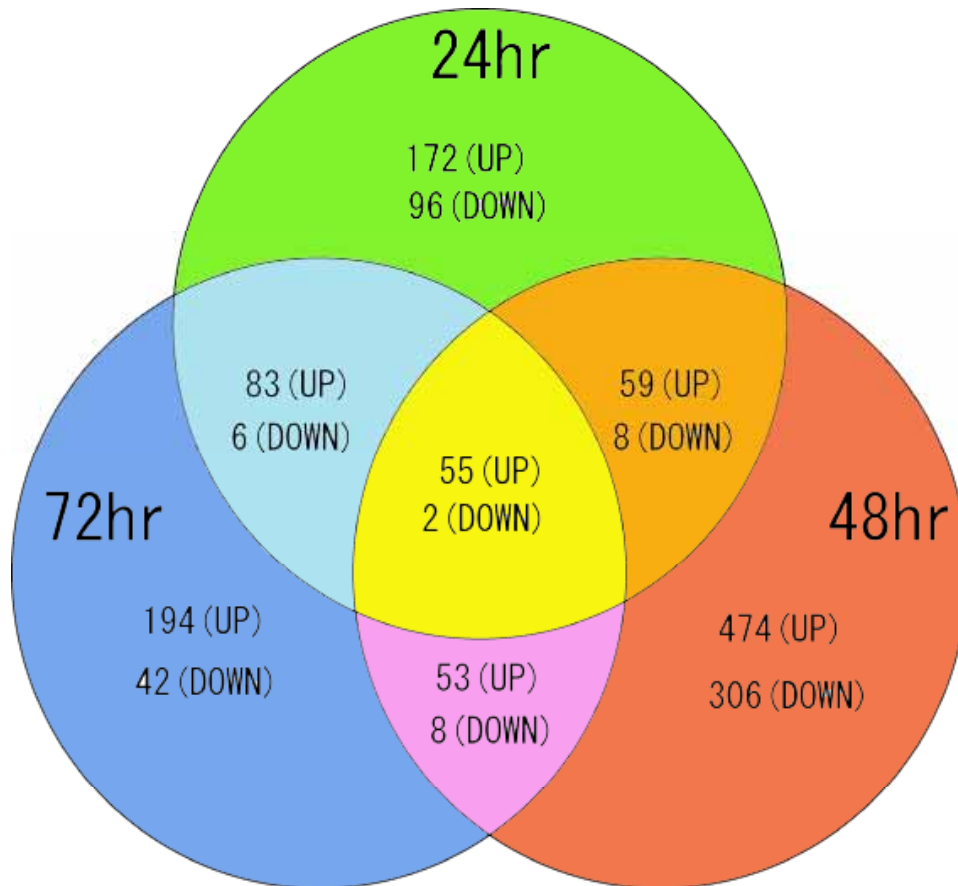


図 24. マイクロアレイ法によるリン酸飢餓応答遺伝子数と処理時間との関係

UP および DOWN は、リン酸飢餓処理区と各並行無処理区(24, 48, 72 時間)との比において、それぞれ 2 倍以上あるいは 1/2 倍以下の遺伝子を意味する。

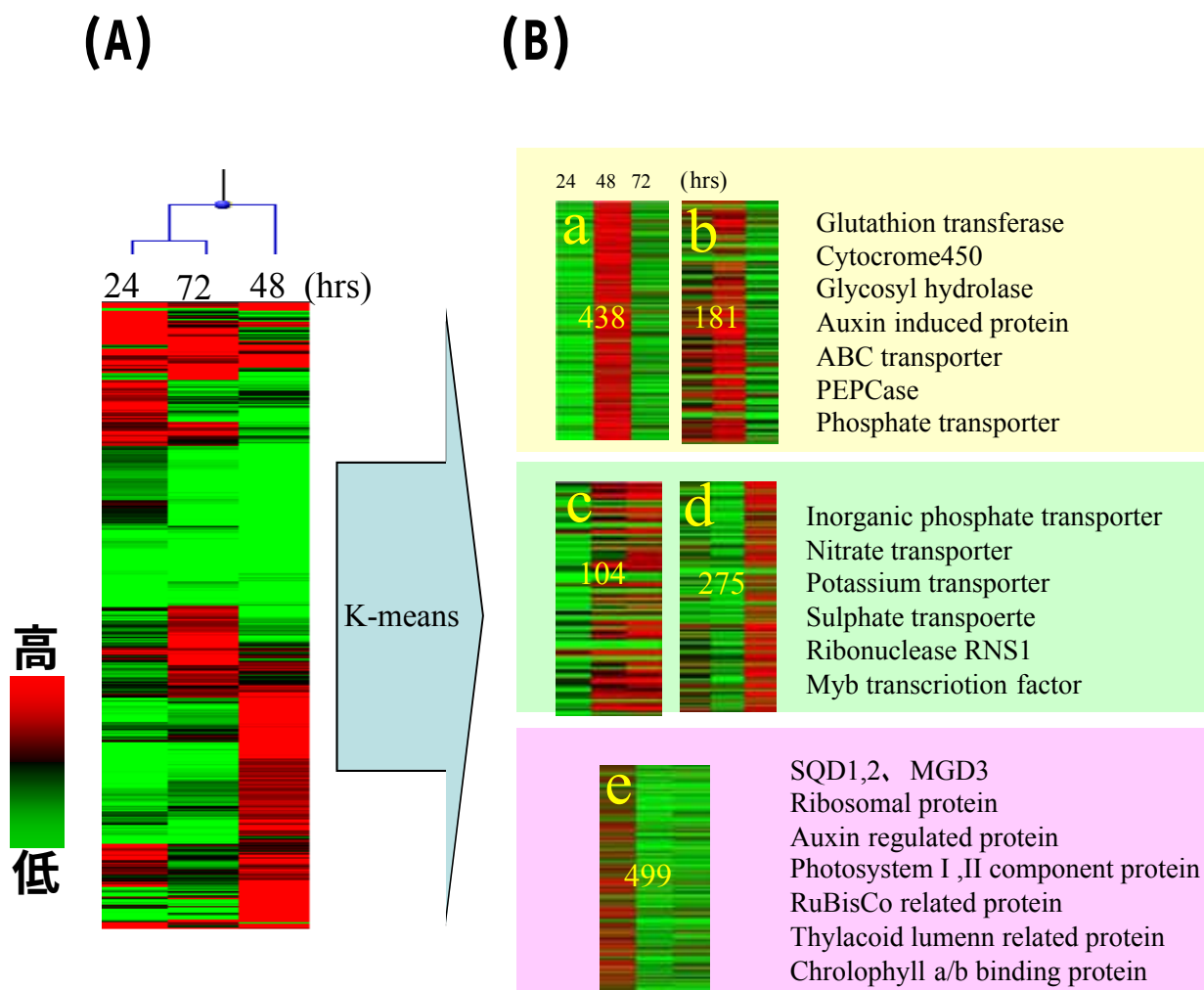


図 25. マイクロアレイ法によるリン酸飢餓応答性遺伝子の発現パターン

(A) リン酸飢餓に応答した 1,497 遺伝子(補助データ 2 参照)のヒエラルキー法クラスタリング

48 時間リン酸飢餓処理区において、特異的な誘導性を示した遺伝子が多くみられた。

(B) K-means 法による発現パターン別クラスタリング

黄色の数字はグループに含まれる遺伝子数を意味する。各グループ中のカラムは左から 24, 48, 72 時間での発現を表す。

表 10. マイクロアレイ解析によりリン酸飢餓応答した遺伝子の細胞内移行性による分類

転写量の変化	遺伝子数 (下段%)	TargetPによる分類		
		葉緑体	ミトコンドリア	分泌型
2倍以上	1090 100%	100 9.2	71 6.5	175 16.1
0.5倍以下	468 100%	172 36.8	30 6.4	43 9.2

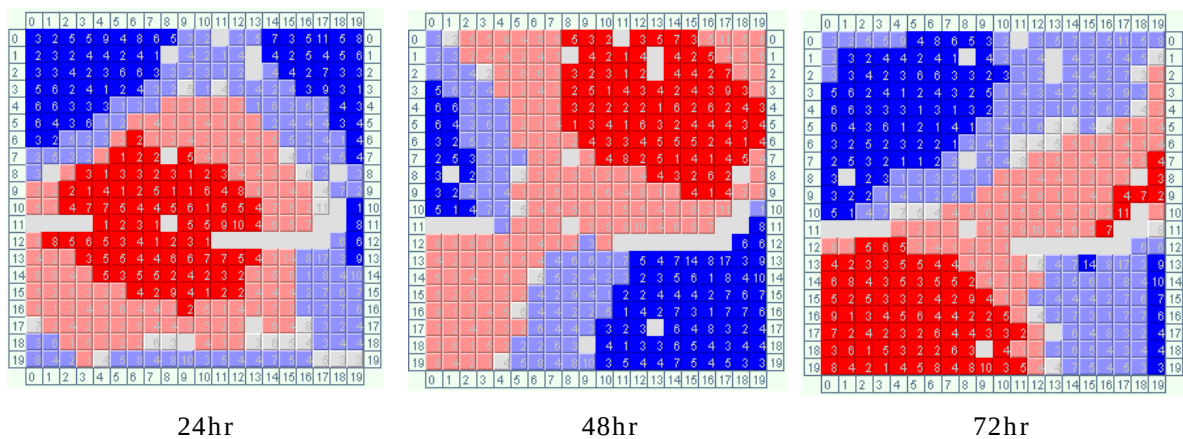


図 26. リン酸飢餓応答遺伝子の Batch Learning SOM 法による分類結果（赤は平均以上、青は平均以下の発現が起きているセルを示し、数字は分類された遺伝子数を示す。）



図 27. 葉緑体移行性を有するリン酸飢餓応答遺伝子の BL-SOM による分布

各セルの数字は、BL-SOM 法により割り当てられた遺伝子数を示す。赤い丸の囲みに遺伝子が多く集中している。これらのセルに含まれる遺伝子は 48 時間で転写が減少するものが含まれている。

表 11. シロイヌナズナ葉緑体包膜に局在するタンパク質遺伝子発現に対するリン酸飢餓処理の影響

Ferro (2002)らが報告した包膜タンパク質遺伝子のうち、マイクロアレイに含まれた 48 個の遺伝子発現変化を示している。青で示した遺伝子は、各処理区において平行コントロールに対して 1/2 倍以下に低下したものを意味する。

GeneName	Localization(puta	Description	24Pi_24cont	48Pi_48cont	72Pi_72cont
AT5G12860.Inner	membrane	2-oxoglutarate/malate translocator precursor	0.91	0.49	0.73
AT5G16150.Inner	membrane	-like protein	1.05	0.67	0.80
AT5G46110.Inner	membrane	sugar transporter-like protein	1.15	0.38	0.58
AT5G33320.Inner	membrane	phosphate/triose-phosphate translocator precursor (gb AAC83815.1)	0.90	0.96	0.99
AT4G30580.Inner	membrane#	phosphate/phosphoenolpyruvate translocator precursor	1.08	0.61	0.84
AT4G30950.Inner	membrane#	putative protein	1.63	0.97	1.23
AT3G63410.Inner	membrane	chloroplast omega-6 fatty acid desaturase (fad6)	1.21	0.61	0.90
AT4G31780.Inner	membrane	putative chloroplast inner envelope protein	1.68	1.09	1.11
AT1G32080.Inner	membrane	monogalactosyldiacylglycerol synthase - like protein	2.13	0.47	1.28
AT3G26570.Inner	membrane	expressed protein	1.13	0.54	0.84
AT2G47840.Inner	membrane	phosphate transporter, putative	1.04	0.78	1.00
AT5G62720.Inner	membrane	expressed protein	1.13	0.48	1.02
AT5G59250.Inner	membrane*	putative protein	1.24	0.61	0.85
AT5G64290.Inner	membrane*	D-xylose-H+ symporter - like protein	1.03	0.70	0.84
AT2G26900.Inner	membrane*	2-oxoglutarate/malate translocator	1.07	0.65	1.20
AT1G78620.Inner	membrane*	putative Na+ dependent ileal bile acid transporter	1.05	0.97	0.94
AT1G15500.Inner	membrane*	expressed protein	0.99	0.81	1.03
AT2G42770.Inner	membrane*	adenine nucleotide translocase, putative	0.99	0.82	0.92
AT3G51140.Inner	membrane*	expressed protein	1.15	0.85	0.98
AT3G61870.Inner	membrane*	putative protein	1.34	0.52	0.97
AT5G12470.Inner	membrane*	putative protein	1.09	0.99	1.07
AT5G13720.Inner	membrane*	unknown protein	1.02	0.87	0.90
AT4G39460.Inner	membrane*	mitochondrial carrier protein family	1.20	0.69	0.88
AT1G42960.Inner	membrane*	expressed protein	1.06	0.82	0.94
AT3G51870.Inner	membrane*	putative carrier protein	0.66	0.57	0.79
AT1G06690.Inner	membrane*	expressed protein	1.06	0.84	0.97
AT4G23430.Inner	membrane*	putative protein	1.46	1.52	1.01
AT3G20320.Inner	membrane*	expressed protein	1.11	0.93	1.02
AT4G33350.Inner	membrane*	Tic22 -like protein	1.01	0.83	0.97
AT3G63150.Outer	membrane	rac-GTP binding protein -like	0.99	0.96	0.98
AT3G52230.Outer	membrane	expressed protein	0.84	0.92	0.89
AT5G05000.Outer	membrane	GTP-binding protein (gb AAD09203.1)	1.12	1.56	1.47
AT4G27440.Outer	membrane	protochlorophyllide reductase precursor	1.62	0.65	1.23
AT3G46740.Outer	membrane	chloroplast import-associated channel protein	0.97	0.71	0.97
AT1G76405.Outer	membrane	homolog	1.07	0.95	0.94
AT3G49560.Envelope		auxin-regulated protein	0.92	0.91	1.03
AT4G26670.Envelope		putative protein	0.91	0.77	1.03
AT2G44640.Envelope		putative protein	1.01	0.59	0.99
AT1G02560.Stroma/Envelope		expressed protein	1.26	0.62	0.80
AT1G12410.Stroma/Envelope		ATP-dependent Clp protease proteolytic subunit (ClpP5)	1.14	0.72	0.87
AT4G35000.Stroma/Thylakoid		ATP-dependent Clp protease proteolytic subunit (ClpR2)	1.01	0.94	1.04
AT3G60750.Stroma/Thylakoid		ascorbate peroxidase, putative (APX)	1.44	0.79	1.06
AT5G66190.Stroma/Thylakoid		transketolase - like protein	1.53	0.46	0.72
AT4G38970.Stroma		ferredoxin-NADP+ reductase	1.54	0.47	0.85
AT5G20720.Stroma		putative fructose-bisphosphate aldolase	1.07	0.50	0.82
AT3G12780.Stroma		chloroplast Cpn21 protein	1.56	0.59	0.96
AT2G39730.Stroma		phosphoglycerate kinase, putative	1.97	0.35	0.65
AT1G12900.Stroma		auxin-regulated protein	1.60	0.42	0.88
		putative calcium-binding protein, calreticulin			

 <0.5

#: 酵素活性を確認した遺伝子

*: 局在が予想される遺伝子



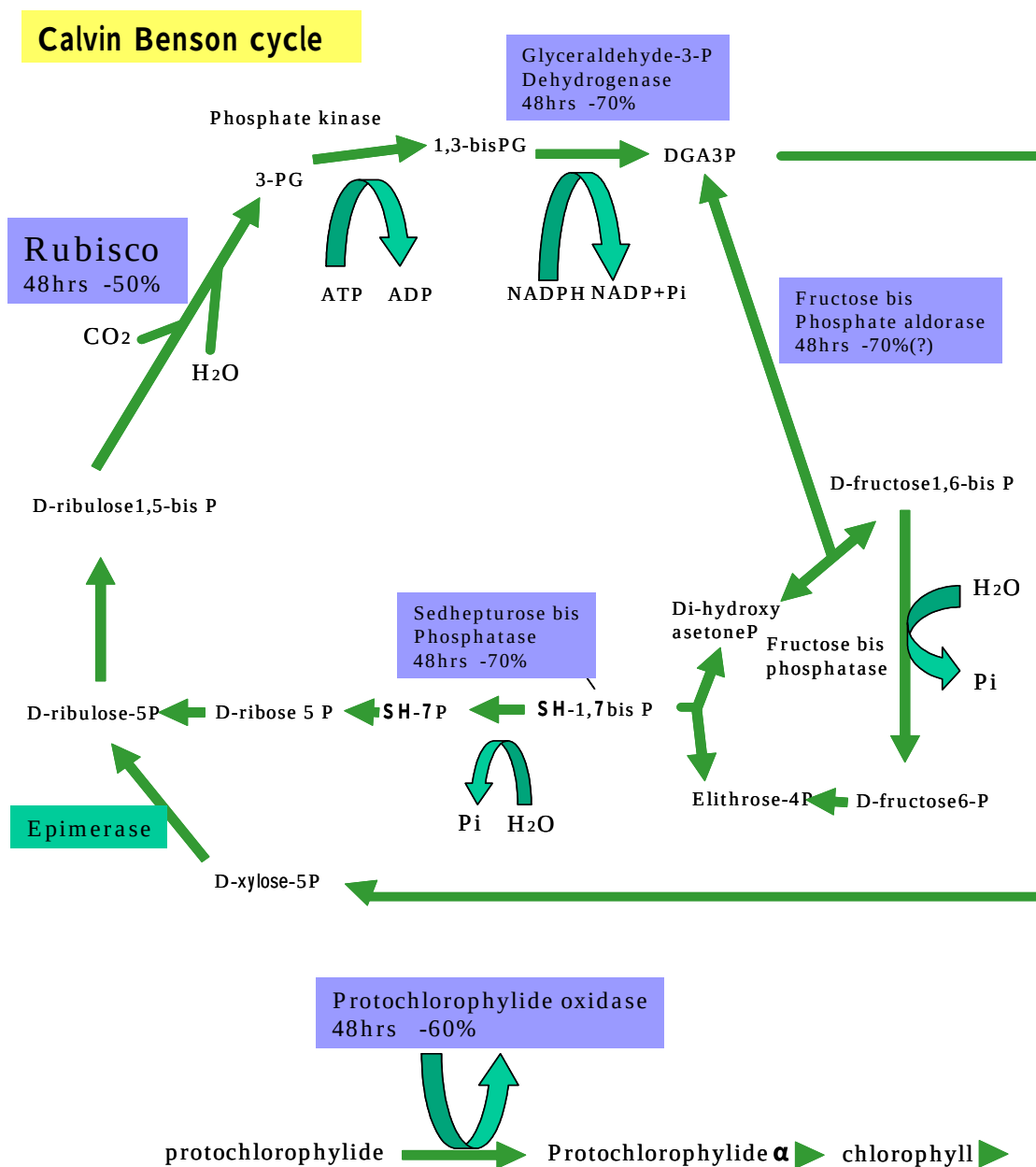


図 29. リン酸飢餓処理がカルビン回路遺伝子に与える影響

紫色の遺伝子は、遺伝子発現が 1/2 倍以下に減少していたことを意味する

表 12. リン酸飢餓処理により 5 倍以上の転写量の変化を示した遺伝子リスト

オレンジ色のカラムは、コントロールに対して転写量の変化が 5 倍以上の誘導が起きたことを意味する。局在性 S: 分泌系、C: 葉緑体、M: ミトコンドリアへの移行性ペプチドを持つことを意味する (Target P による検索結果)。

GeneName	Description	Gene Name	無処理区との比			並行無処理区との比			局在性		
			24Pi	48Pi	72Pi	24Pi	48Pi	72Pi	S	C	M
AT9G21500.1	1-D-deoxyxylulose 5-phosphate synthase, putative		1.80	3.67	1.18	1.17	5.48	0.97			
AT1G61800.1	glucose-6-phosphate/phosphate translocator precursor, putative	AtGPT	0.38	1.99	1.43	1.08	5.83	6.25			
AT1G32900.1	starch synthase, putative		0.20	1.83	1.62	1.93	6.78	4.50			
AT4G10120.1	sucrose-phosphate synthase-like protein		0.85	2.32	1.81	8.62	3.28	2.07			
AT9G17790.1	acid phosphatase type 5	ATACP5	1.13	2.36	1.94	5.56	2.86	1.52			
AT1G52940.1	putative purple acid phosphatase		0.78	3.84	3.37	1.52	7.87	4.52			
AT5G64000.1	3(2),5-bisphosphate nucleotidase (emb1CAB05889.1)	SAL2	0.19	1.60	1.43	1.51	7.33	4.11			
AT5G26010.1	protein phosphatase 2C (PP2C), putative		0.57	1.05	1.10	0.74	1.08	6.47			
AT2G02990.1	ribonuclease, RNS1		0.98	4.15	3.05	3.73	15.28	11.81			
AT9G48850.1	mitochondrial phosphate transporter	PHT3	1.08	2.85	1.63	0.96	5.07	1.73			
AT2G38940.1	phosphate transporter (AtPT2)	PHT4	1.39	5.09	3.61	9.03	10.18	2.43			
AT1G12940.1	nitrate transporter, putative, 11TM		1.87	3.25	2.00	1.72	0.89	5.33			
AT4G23700.1	putative Na ⁺ /H ⁺ -exchanging protein 12TM	ATCHX17	1.42	2.56	1.06	1.04	6.25	1.26			
AT1G73220.1	putative transporter		2.18	7.79	6.62	11.39	11.31	1.92			
AT9G44920.1	putative protein	ATCHX11	1.24	2.26	1.03	2.89	5.31	1.63			
AT4G38030.1	sulfolipid biosynthesis protein SQD1	SQD1	0.51	2.18	1.54	7.02	3.17	2.13			
AT5G01220.1	putative protein	SQD2	0.57	2.52	1.77	8.70	6.25	3.19			
AT9G26830.1	cytochrome p450 family	PAD3	0.85	1.89	0.66	0.71	8.75	1.10			
AT5G57220.1	cytochrome p450 family		0.13	0.68	0.22	0.23	5.61	0.66			
AT1G02930.1	glutathione transferase, putative	ATGST1	1.05	1.24	0.60	0.66	5.63	0.87			
AT1G17170.1	glutathione transferase, putative		2.19	2.77	1.54	0.67	5.06	0.84			
AT1G69930.1	glutathione transferase, putative		0.57	1.62	0.72	1.13	7.69	2.79			
AT2G29470.1	glutathione transferase, putative		0.45	1.10	0.42	1.06	8.22	0.82			
AT2G29490.1	glutathione transferase, putative		1.69	2.02	1.60	1.08	5.33	1.20			
AT4G15210.1	glycosyl hydrolase family 14 (beta-amylase)		2.20	18.53	6.53	13.49	45.38	12.62			
AT4G16260.1	glycosyl hydrolase family 17		1.34	1.91	0.71	0.98	7.19	0.93			
AT4G19810.1	glycosyl hydrolase family 18		0.95	3.75	1.42	0.78	10.24	1.49			
AT2G43570.1	glycosyl hydrolase family 19 (chitinase)		2.04	3.60	1.69	0.58	5.21	1.13			
AT2G43590.1	glycosyl hydrolase family 19 (chitinase)		1.38	4.64	1.57	0.89	5.97	1.89			
AT1G26420.1	FAD-linked oxidoreductase family		0.55	1.76	0.62	0.43	6.27	0.63			
AT1G75910.1	family II extracellular lipase 4 (EXL4)	EXL4	1.03	0.76	1.14	0.87	0.85	5.25			
AT4G14630.1	germin precursor oxalate oxidase	GLP9	0.98	2.38	1.26	0.23	6.27	1.24			
AT4G37990.1	cinnamyl alcohol dehydrogenase ELIS-2		0.45	2.19	0.94	0.85	7.27	1.67			
AT5G59310.1	nonspecific lipid transfer protein precursor-like		1.03	0.90	5.87	0.99	0.89	6.04			
AT5G05340.1	peroxidase, putative		4.41	9.22	0.92	2.03	12.74	1.22			
AT5G06860.1	polygalacturonase inhibiting protein (PGIP1)		2.66	3.66	2.59	1.46	5.68	2.71			
AT4G26790.1	putative APG protein		1.49	1.24	2.21	1.30	1.00	5.68			
AT2G29350.1	putative tropinone reductase	SAG13	2.64	3.62	1.10	1.09	5.78	0.98			
AT2G11810.1	putative monogalactosyldiacylglycerol synthase	MDG3	0.24	1.47	1.29	14.03	11.80	3.15			
AT1G61950.1	calcium-dependent protein kinase, putative		0.37	0.78	1.67	1.13	5.18	1.34			
AT1G72460.1	leucine-rich repeat transmembrane protein kinase, putative		3.79	3.85	1.20	3.59	11.79	4.46			
AT2G16620.1	putative protein kinase		5.60	4.39	1.42	5.05	1.61	2.54			
AT2G10105.1	similar to athila ORF 1, putative		2.34	1.01	0.76	3.25	2.21	10.49			
AT1G66170.1	PHD-finger protein, putative	MMD1	0.92	1.00	0.89	0.93	7.25	0.96			
AT5G20150.1	ids4-like protein		0.61	1.36	1.38	17.19	4.49	2.05			
AT2G04160.1	subtilisin-like serine protease AIR3	AIR	1.36	3.34	2.27	1.50	5.03	3.15			
AT1G09080.1	putative luminal binding protein		0.68	3.09	2.59	1.49	5.79	4.47			
AT1G46768.1	AP2 domain protein RAP2.1		1.64	1.95	1.14	4.95	5.47	2.15			
AT2G34210.1	putative transcription elongation factor		0.22	3.13	2.01	2.29	6.91	3.85			
AT2G26560.1	patatin, putative		0.26	1.30	0.49	0.45	10.57	0.84			
AT1G08310.1	unknown protein		0.61	2.10	1.75	10.78	7.30	2.22			
AT1G55650.1	unknown protein		1.88	2.22	2.07	2.11	1.69	5.47			
AT9G30140.1	unknown protein		2.15	4.94	2.65	5.31	1.26	2.93			
AT1G09310.1	expressed protein		1.53	2.80	2.35	5.75	0.89	1.98			
AT1G18490.1	expressed protein		3.81	3.09	0.94	7.74	6.68	2.13			
AT1G73010.1	expressed protein		0.37	1.94	1.49	19.18	18.55	3.90			
AT2G15220.1	expressed protein		2.56	4.17	2.33	0.26	8.69	0.66			
AT2G18690.1	expressed protein		0.19	0.62	0.41	0.64	5.60	1.26			
AT2G21820.1	expressed protein		3.10	4.58	2.08	5.31	1.55	2.55			
AT9G02040.1	expressed protein		0.50	1.47	1.27	12.25	3.83	1.94			
AT1G13520.1	hypothetical protein		0.35	0.91	0.36	0.26	5.28	0.56			
AT1G17710.1	hypothetical protein		0.57	4.92	3.58	21.32	24.72	5.52			
AT1G60280.1	hypothetical protein		2.32	3.94	1.54	7.48	1.09	2.17			
AT1G67390.1	hypothetical protein		2.78	2.63	2.08	6.37	1.17	1.83			
AT2G16220.1	hypothetical protein		5.31	1.42	2.32	5.66	1.34	1.64			
AT2G18660.1	hypothetical protein		0.86	3.23	2.74	2.36	7.24	9.44			
AT9G31380.1	hypothetical protein		2.91	2.60	1.81	2.27	1.31	5.04			
AT9G49380.1	hypothetical protein		0.72	0.81	0.86	1.01	1.03	5.53			
AT5G07450.1	putative protein		1.17	1.64	1.30	1.80	1.84	5.17			
AT5G20790.1	putative protein		0.88	2.56	2.45	23.56	4.18	1.91			

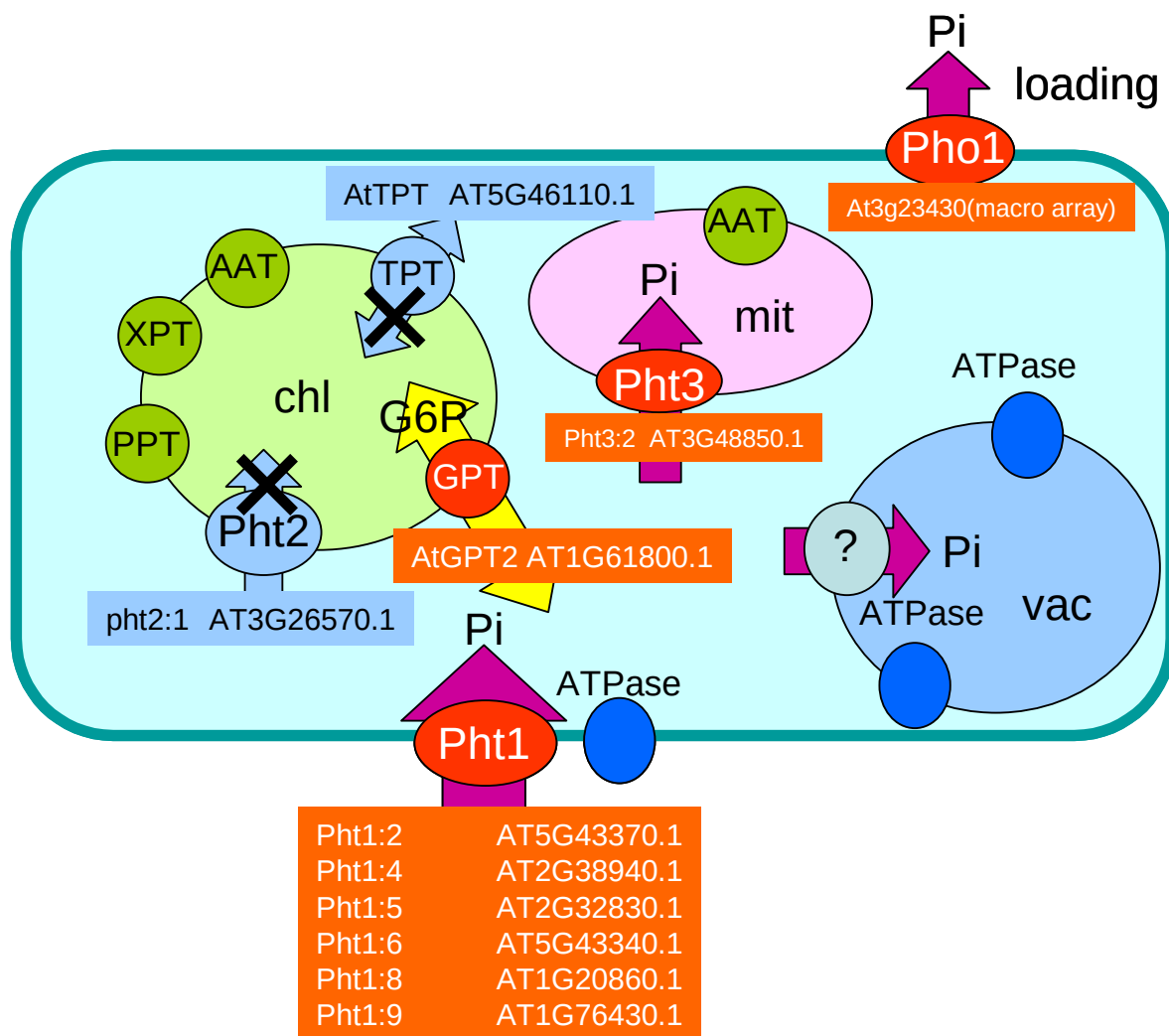


図 30. リン酸飢餓処理によるリン酸輸送関連遺伝子の選択的発現変化

植物のリン酸輸送に関する機能を一つの細胞に集めて表現した。オレンジ色の遺伝子はリン酸飢餓処理に応答して誘導された遺伝子を意味する。青色の遺伝子は抑制された遺伝子を意味する。

※図中の略号

Chl:葉緑体

mit:ミトコンドリア

vac:液胞

AAT:ATP/ADPtranslocator

PPT: phosphate / phosphor enolpyruvatetranslocator

XPT:Phosphate/Xylose5-Ptranslocator

TPT:phosphate/triose-phosphate translocator

GPT: glucose-6-phosphate /phosphate translocator

補助データ 2: リン酸飢餓処理により、発現が±2 倍以上に変化した遺伝子

GeneName	Description	24hr	48hr	72hr	GeneName	Description	24hr	48hr	72hr
ATIG01080.1	chloroplast RNA-binding protein cp33, putative	1.07	0.41	0.76	ATIG19180.1	expressed protein	1.28	2.74	0.89
ATIG01130.1	hypothetical protein	1.86	1.43	2.09	ATIG19230.1	respiratory burst oxidase protein,	0.74	2.23	0.94
ATIG01190.1	cytochrome P450, putative	1.87	2.31	2.19	ATIG19870.1	expressed protein	2.15	0.50	0.52
ATIG01720.1	NAC domain protein, putative	1.05	2.49	0.95	ATIG20020.1	ferredoxin--NADP reductase precursor, putative	1.51	0.95	1.05
ATIG02220.1	putative	0.50	1.52	0.92	ATIG20150.1	subtilisin-like serine protease	0.47	0.82	0.74
ATIG02280.1	putative GTP-binding protein	0.73	0.41	0.87	ATIG20160.1	subtilisin-like serine protease	1.45	2.15	1.08
ATIG02360.1	glycosyl hydrolase family 18 (chitinase)	0.40	8.39	1.05	ATIG20810.1	expressed protein	0.87	2.29	0.89
ATIG02610.1	pectinesterase family	1.58	2.06	1.80	ATIG20840.1	plastocyanin	1.78	0.45	0.75
ATIG02820.1	glutathione transferase, putative	0.69	3.70	0.83	ATIG20850.1	cysteine proteinase XCP2	1.41	2.42	2.01
ATIG02930.1	glutathione transferase, putative	0.66	5.83	0.87	ATIG20880.1	transporter protein	1.88	2.51	1.89
ATIG02980.1	hypothetical protein	2.14	0.92	2.29	ATIG20930.1	Cyolin-dependent kinase B2;2	1.39	2.64	1.40
ATIG03120.1	unknown protein	1.82	2.12	1.40	ATIG21060.1	unknown protein	0.43	0.94	0.73
ATIG03130.1	putative photosystem I reaction center subunit II precursor	1.20	0.41	0.85	ATIG21070.1	expressed protein	2.57	0.68	1.34
ATIG03600.1	photosystem II protein family	1.74	0.37	0.95	ATIG21100.1	0-methyltransferase 1, putative	1.04	2.19	1.31
ATIG03675.1	putative thioredoxin-m	1.28	0.48	0.85	ATIG21110.1	0-methyltransferase 1, putative	0.50	2.04	1.03
ATIG03820.1	hypothetical protein	1.96	1.28	2.22	ATIG21120.1	0-methyltransferase 1, putative	0.40	2.41	0.82
ATIG03940.1	hypothetical protein	2.47	1.32	1.33	ATIG21130.1	0-methyltransferase 1, putative	0.46	2.07	0.92
ATIG03980.1	putative phytochelatin synthase	1.27	0.95	2.61	ATIG21810.1	hypothetical protein	0.75	2.91	1.70
ATIG04340.1	putative auxin-induced protein AUX2-11	1.68	0.55	2.86	ATIG22170.1	expressed protein	1.80	2.68	2.07
ATIG04420.1	hypothetical protein	1.20	0.49	0.81	ATIG22400.1	UDP-glucose glucosyltransferase,	0.98	2.41	1.03
ATIG04500.1	hypothetical protein	1.15	0.99	2.01	ATIG22410.1	3-deoxy-D-arabino-heptulosonate 7-phosphate, putative	1.46	2.39	1.64
ATIG05010.1	1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase (ACC oxidase) (ethylene-forming enzyme) (EFE)	0.92	2.31	1.12	ATIG22630.1	auxin-regulated protein	1.93	0.93	0.74
ATIG05180.1	putative chloroplast 50S ribosomal protein, L6	1.39	0.42	0.99	ATIG22930.1	copper chaperone (COH)-related	1.44	2.58	2.21
ATIG05510.1	hypothetical protein	1.33	1.01	2.01	ATIG23060.1	expressed protein	1.29	1.61	2.16
ATIG06830.1	photosystem II oxygen-evolving complex 23 (OE23)	1.82	0.47	0.92	ATIG23110.1	unknown protein	2.99	9.87	2.43
ATIG06740.1	madA-like protein	2.49	1.67	3.86	ATIG23140.1	C2 domain-containing protein	2.34	1.94	1.43
ATIG07150.1	MARCK gamma protein kinase, putative	0.99	0.99	2.54	ATIG23140.1	putative metalloproteinase	0.60	2.03	1.01
ATIG07320.1	expressed protein	1.39	0.42	1.00	ATIG24270.1	hypothetical protein	0.74	0.43	0.59
ATIG07340.1	hexose transporter, putative	3.04	0.85	2.43	ATIG24822.1	F5A9.18	1.88	1.74	2.31
ATIG07430.1	protein phosphatase 2C (PP2C), putative	2.06	1.04	3.29	ATIG24851.1	F5A9.15	2.17	4.23	2.31
ATIG07720.1	beta-ketoacyl-CoA synthase family	1.48	1.16	2.27	ATIG24809.1	anthranilate synthase beta subunit	1.07	3.80	0.89
ATIG07910.1	translation elongation factor EF-1 alpha	2.58	1.53	1.92	ATIG24898.1	F5A9.12	2.85	1.97	2.37
ATIG08910.1	unknown protein	18.73	7.30	2.32	ATIG25025.1	F5A9.9	1.91	2.00	1.85
ATIG08980.1	expressed protein	1.44	0.46	0.86	ATIG25530.1	lysine and histidine specific transporter, putative	1.07	2.86	1.98
ATIG08430.1	hypothetical protein	1.30	1.58	2.29	ATIG26880.1	FAD-linked oxidoreductase family	0.28	2.75	0.67
ATIG08650.1	putative osmium-dependent protein kinase (O80439)	4.24	9.51	2.19	ATIG26990.1	FAD-linked oxidoreductase family	0.59	2.06	0.90
ATIG09070.1	expressed protein	1.54	2.72	1.61	ATIG26410.1	FAD-linked oxidoreductase family	0.47	1.43	0.73
ATIG09080.1	putative luminal binding protein	1.49	5.79	4.47	ATIG26420.1	FAD-linked oxidoreductase family	0.43	6.27	0.83
ATIG09090.1	putative respiratory burst oxidase protein B	1.81	2.71	0.97	ATIG26500.1	hypothetical protein	0.96	0.29	0.58
ATIG09240.1	nicotianamine synthase, putative	4.27	1.78	1.19	ATIG26740.1	expressed protein	0.55	0.92	0.78
ATIG09310.1	expressed protein	5.75	0.89	1.98	ATIG26850.1	hypothetical protein	2.84	1.03	2.40
ATIG09340.1	putative RNA-binding protein	2.58	0.37	0.84	ATIG27220.1	hypothetical protein	2.20	1.07	2.50
ATIG09530.1	putative phytochrome-associated protein 3	1.71	2.05	1.56	ATIG27480.1	expressed protein	1.25	0.45	0.96
ATIG09540.1	myb family transcription factor	1.24	1.43	2.19	ATIG27710.1	unknown protein	1.20	1.23	2.19
ATIG09750.1	expressed protein	1.60	0.34	2.19	ATIG27730.1	salt-tolerance zinc finger protein	0.83	4.29	0.99
ATIG09780.1	putative 2,8-bisphosphoglycerate-independent phosphoglycerate mutase	2.09	1.59	1.92	ATIG28000.1	hypothetical protein	2.48	1.91	1.90
ATIG09870.1	leucine-rich repeat transmembrane protein kinase, putative	1.07	2.25	1.14	ATIG28170.1	steroid sulfotransferase, putative	1.55	1.19	2.04
ATIG10080.1	expressed protein	1.05	2.18	1.98	ATIG28190.1	hypothetical protein	0.88	3.82	1.13
ATIG10585.1	Expressed protein	0.77	3.73	1.29	ATIG28270.1	hypothetical protein	0.53	0.59	0.45
ATIG10980.1	ferredoxin precursor isolog	1.11	0.40	0.88	ATIG28480.1	glutaredoxin, putative	0.95	3.68	0.78
ATIG11430.1	DAG protein, putative	1.25	0.45	0.88	ATIG29070.1	plastid ribosomal protein L34 precursor, putative	1.18	0.29	0.75
ATIG11860.1	aminomethyltransferase-like precursor protein	1.37	0.42	0.82	ATIG29430.1	auxin-induced protein, putative	2.19	1.89	1.12
ATIG11980.1	putative growth regulator protein	3.05	1.58	2.69	ATIG29490.1	hypothetical protein	1.92	1.21	2.25
ATIG12010.1	1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase (ACC oxidase), putative	0.72	0.59	0.95	ATIG29500.1	auxin-induced protein, putative	0.79	0.58	2.21
ATIG12150.1	hypothetical protein	0.45	0.58	1.15	ATIG29530.1	hypothetical protein	1.74	1.43	4.33
ATIG12200.1	unknown protein	1.04	2.24	1.69	ATIG29810.1	hypothetical protein	0.84	2.11	1.10
ATIG12900.1	putative osmium-binding protein, calreticulin	1.60	0.42	0.88	ATIG29860.1	lipase/hydrolase, putative	1.90	1.42	3.22
ATIG12940.1	nitrate transporter, putative	1.72	0.89	5.33	ATIG29890.1	expressed protein	1.02	2.00	1.36
ATIG13900.1	expressed protein	0.92	2.06	1.24	ATIG29910.1	bindings protein, putative	1.94	0.99	1.01
ATIG13940.1	hypothetical protein	0.82	3.15	1.13	ATIG30380.1	photosystem I subunit X precursor	1.61	0.41	0.77
ATIG13430.1	steroid sulfotransferase, putative	2.87	3.09	1.10	ATIG30500.1	transcription factor, putative	1.93	2.91	2.19
ATIG13520.1	hypothetical protein	0.26	6.58	0.56	ATIG30530.1	glycosyltransferase family	2.09	1.16	1.74
ATIG13750.1	unknown protein	2.04	2.06	1.42	ATIG30700.1	FAD-linked oxidoreductase family	0.30	3.85	0.49
ATIG13930.1	expressed protein	1.48	2.26	1.12	ATIG30720.1	FAD-linked oxidoreductase family	0.40	2.93	0.82
ATIG14030.1	liponase dehydrogenase, putative	2.77	1.59	1.89	ATIG30730.1	FAD-linked oxidoreductase family	0.43	3.93	0.81
ATIG14130.1	2-oxoglutarate-dependent dioxygenase, putative	2.00	3.14	0.86	ATIG30925.1	hypothetical protein	1.81	2.07	1.50
ATIG14150.1	PsbD domain protein family	1.87	0.21	0.75	ATIG31240.1	hypothetical protein	2.02	1.95	1.51
ATIG14345.1	Expressed protein	1.38	0.48	0.78	ATIG31270.1	hypothetical protein	1.95	2.87	4.71
ATIG14420.1	polysaccharide lyase family 1 (pectate lyase)	2.88	1.53	1.92	ATIG31330.1	photosystem I subunit III precursor, putative	1.42	0.45	0.80
ATIG14680.1	hypothetical protein	1.82	0.80	2.08	ATIG31640.1	MADS-box protein	2.42	2.15	1.28
ATIG14870.1	unknown protein	0.51	8.19	0.92	ATIG31870.1	unknown protein	1.47	2.10	1.29
ATIG14960.1	major latex protein (MLP)-related	3.59	1.34	2.29	ATIG31885.1	major intrinsic protein, putative	1.15	2.85	0.97
ATIG15980.1	metal ion transporter, putative	0.84	0.40	0.64	ATIG32060.1	phosphoribulokinase precursor	2.99	0.59	1.14
ATIG16090.1	hypothetical protein	2.54	1.99	2.87	ATIG32090.1	expressed protein	2.19	0.47	1.28
ATIG16130.1	WKK-like kinase (WKK)	0.79	2.38	0.86	ATIG32350.1	oxidase, putative	0.98	2.85	1.90
ATIG17170.1	glutathione transferase, putative	0.87	5.06	0.84	ATIG32470.1	precursor, putative	2.32	0.34	0.85
ATIG17180.1	glutathione transferase, putative	0.82	4.99	0.90	ATIG32800.1	starch synthase, putative	1.93	8.79	4.50
ATIG17190.1	glutathione transferase, putative	3.17	1.43	1.08	ATIG32820.1	expressed protein	0.96	2.08	1.14
ATIG17310.1	MADS-box protein	3.52	1.17	1.88	ATIG32860.1	subtilisin-like serine protease	1.00	1.13	2.34
ATIG17560.1	ribosomal protein, putative	1.03	0.45	1.22	ATIG32880.1	hypothetical protein	1.03	0.92	2.57
ATIG17650.1	Expressed protein	1.21	0.42	0.94	ATIG32890.1	ribosomal protein L11, putative	1.29	0.46	0.98
ATIG17710.1	hypothetical protein	21.82	24.72	5.52	ATIG33720.1	cytochrome P450 monooxygenase	1.12	1.84	2.43
ATIG17745.1	expressed protein	1.68	4.90	2.34	ATIG33760.1	transcription factor TINY, putative	1.03	2.49	3.93
ATIG17860.1	lemlir (mlrsculin), putative	0.71	3.75	0.89	ATIG33780.1	chloroplast lumen common protein	2.08	1.54	1.33
ATIG17990.1	12-oxophylodienone reductase, putative	0.49	1.50	0.92	ATIG33830.1	AI-G1-like protein	1.85	3.39	0.71
ATIG18100.1	terminal Flower 1 (TF1), putative	1.78	2.09	1.55	ATIG33890.1	AI-G1-like protein	2.39	0.90	1.99
ATIG18300.1	unknown protein	0.92	2.67	0.93	ATIG33910.1	AI-G1-like protein	2.45	2.24	3.04
ATIG18430.1	expressed protein	2.74	6.58	2.13	ATIG33930.1	AI-G1-like protein	1.49	1.06	3.01
ATIG18570.1	myb family transcription factor	0.43	2.47	1.00	ATIG34430.1	CHP-rich zinc finger protein, putative	2.14	1.59	1.17
ATIG18730.1	unknown protein	1.43	0.44	0.77	ATIG34510.1	peroxidase, putative	2.40	1.03	1.33
ATIG18880.1	peptide transporter, putative	1.49	2.01	1.27	ATIG34540.1	cytochrome p450, putative	1.29	0.95	2.81
ATIG18970.1	germin, putative	0.29	1.76	0.73	ATIG35180.1	hypothetical protein	2.55	1.58	1.17
ATIG18980.1	germin, putative	0.43	2.24	1.08	ATIG35513.1	unknown protein	0.52	0.58	0.47

GeneName	Description	24hr	48hr	72hr	GeneName	Description	24hr	48hr	72hr
ATIG55520.1	auxin response factor, putative	1.53	1.15	2.47	ATIG64180.1	disease resistance response protein family/ diriscent protein family	0.89	0.88	0.19
ATIG55880.1	SOS ribosomal protein L21 chloroplast precursor (CL21)	1.21	0.35	0.80	ATIG64210.1	leucine-rich repeat transmembrane protein kinase, putative	0.81	0.88	0.46
ATIG56720.1	annexin	1.73	2.26	1.71	ATIG64370.1	expressed protein	2.32	1.87	1.14
ATIG55740.1	hypothetical protein	1.44	0.91	2.14	ATIG64510.1	plastid ribosomal protein S8, putative	1.28	0.45	0.85
ATIG56030.1	F-box protein family	1.23	2.08	1.18	ATIG64810.1	hypothetical protein	0.83	2.04	0.93
ATIG56105.1	mutator-like transposase, putative	1.60	1.22	2.03	ATIG64770.1	expressed protein	2.26	0.59	1.14
ATIG642080.1	hypothetical protein	2.32	0.37	1.64	ATIG64780.1	ammonium transporter, putative	1.29	3.07	1.85
ATIG642705.1	Tam3-like transposon protein	0.68	0.65	3.70	ATIG65090.1	hypothetical protein	0.99	0.30	2.00
ATIG642970.1	glyoxaldehyde-3-phosphate dehydrogenase	2.10	0.38	0.80	ATIG65690.1	expressed protein	0.53	2.12	0.74
ATIG64345.1	retroelement protein, putative	1.53	0.61	3.15	ATIG65840.1	polyamine oxidase, putative	2.28	2.32	2.25
ATIG643940.1	hypothetical protein	0.66	0.50	0.43	ATIG65880.1	amf-binding protein, putative	2.87	1.79	1.94
ATIG644000.1	expressed protein	1.38	0.46	0.73	ATIG66130.1	oxidoreductase, putative	0.82	0.42	0.88
ATIG644020.1	CMP-rich zinc finger protein, putative	1.19	1.15	2.20	ATIG66170.1	PHD-finger protein, putative	0.93	7.25	0.98
ATIG644180.1	aminocyclase, putative	2.01	1.91	2.20	ATIG68270.1	glucosyl hydrolase family 1, beta-glucosidase	1.49	2.45	1.05
ATIG644575.1	photosystem II 22kDa protein, putative	1.43	0.43	0.98	ATIG68420.1	hypothetical protein	1.32	0.43	0.89
ATIG64768.1	AP2 domain protein BAF2.1	4.35	5.47	2.15	ATIG68690.1	methyltransferase-related	0.49	3.02	0.73
ATIG647890.1	disease resistance protein family	0.45	1.31	0.86	ATIG68700.1	methyltransferase-related	0.57	2.46	0.81
ATIG649000.1	myb family transcription factor	1.04	2.47	0.83	ATIG68760.2	MATE efflux family protein, putative	1.80	2.84	1.87
ATIG64950.1	ribosomal protein L18, putative	1.23	0.34	0.78	ATIG67090.1	ribulose-bisphosphate carboxylase small unit, putative	2.34	0.63	1.09
ATIG64970.1	expressed protein	1.98	2.42	1.61	ATIG67160.1	hypothetical protein	1.74	1.57	2.30
ATIG64790.1	unknown protein	2.46	2.03	2.41	ATIG67390.1	hypothetical protein	2.37	1.17	1.83
ATIG649130.1	CONSTANS B-box zinc finger family protein	1.59	0.37	0.60	ATIG67600.1	Fl2A21.27	2.38	2.03	1.39
ATIG649310.1	hypothetical protein	0.77	2.26	0.96	ATIG67700.1	auxin-regulated protein	1.25	0.41	0.87
ATIG649570.1	peroxidase, putative	1.43	4.38	0.81	ATIG67810.1	Fl2A21.8	1.44	3.81	1.54
ATIG649880.1	glutathione transferase, putative	0.24	0.35	0.75	ATIG67870.1	expressed protein	2.40	1.15	1.08
ATIG649900.1	zinc finger protein ATZF1, putative	1.85	2.38	2.50	CONSTANS B-box zinc finger family protein	1.22	0.46	0.69	
ATIG649930.1	hypothetical protein	0.47	0.37	0.68	ATIG68520.1	expressed protein	1.22	0.38	0.71
ATIG50110.1	branched-chain amino acid aminotransferase, putative	1.18	2.00	1.93	ATIG68820.1	expressed protein	0.56	4.10	0.56
ATIG50300.1	expressed protein	0.97	0.44	0.78	ATIG68870.1	expressed protein	2.88	1.88	1.83
ATIG51055.1	similar to F-box protein	0.64	0.30	0.49	ATIG68880.1	expressed protein	0.89	1.43	2.02
ATIG51120.1	DNA-binding protein BAV1, putative	0.60	0.48	0.89	ATIG68740.1	putative receptor protein	2.82	1.33	1.54
ATIG51420.1	unknown protein	0.92	2.38	1.00	ATIG68750.1	carboxylase	0.87	0.85	0.45
ATIG51800.1	receptor protein kinase, putative	0.38	2.54	0.86	ATIG68800.1	hypothetical protein	0.59	0.44	0.92
ATIG51830.1	light repressible receptor protein kinase, putative	1.01	2.04	1.87	ATIG69490.1	expressed protein	0.78	2.18	0.76
ATIG51850.1	light repressible receptor protein kinase, putative	0.56	2.13	0.92	ATIG69590.1	expansin (At-EXPI)	1.18	1.19	2.05
ATIG51890.1	light repressible receptor protein kinase, putative	0.48	2.37	0.77	ATIG69870.1	putative peptide transporter	1.41	2.21	1.91
ATIG52180.1	peptide transporter, putative	0.37	0.33	1.54	ATIG69880.1	putative thioredoxin	0.86	2.04	1.81
ATIG52200.1	expressed protein	0.43	2.40	0.75	ATIG698920.1	glutathione transferase, putative	0.42	2.55	0.68
ATIG52585.1	hypothetical protein	1.81	2.15	1.81	ATIG69930.1	glutathione transferase, putative	1.13	7.33	2.79
ATIG52680.1	NBS/LRR disease resistance protein, putative	1.09	0.49	1.17	ATIG69940.1	pectinesterase family	0.36	0.41	0.73
ATIG52890.1	NAM-like protein	1.35	2.76	1.33	ATIG70110.1	receptor-like kinase, putative	2.58	0.34	2.29
ATIG52940.1	putative purple acid phosphatase	1.52	7.37	4.52	ATIG70820.1	phosphoglucosylase, putative	1.52	0.32	1.08
ATIG53180.1	hypothetical protein	1.42	2.36	1.43	ATIG70830.1	Csf-2-related	1.92	1.01	2.50
ATIG53210.1	phosphoenolpyruvate carboxylase 1, putative	2.14	1.83	1.11	ATIG70850.1	Csf-2-related	2.06	1.82	1.80
ATIG53250.1	disease resistance protein (CC-NBS-LRR class), putative	0.70	1.70	0.41	ATIG70890.1	major latex protein (MLP)-related	2.35	0.70	2.01
ATIG53280.1	peenin methyltransferase (PMU1), putative	1.29	1.42	2.22	ATIG71030.1	myb family transcription factor	0.80	0.78	2.38
ATIG54000.1	myrosinase-associated protein, putative	0.97	2.68	0.84	ATIG71330.1	ABC transporter family protein	3.03	3.41	3.49
ATIG54510.1	hypothetical protein	2.15	1.36	1.25	ATIG71691.1	hypothetical protein	0.91	0.82	4.70
ATIG54940.1	hypothetical protein	2.08	0.97	1.52	ATIG71800.1	expressed protein	0.73	2.22	0.75
ATIG54980.1	hypothetical protein	1.15	1.16	2.89	ATIG72070.1	DnaJ protein, putative	1.88	3.12	2.50
ATIG55020.1	lipoygenase, putative	0.52	2.43	0.84	ATIG72480.1	leucine-rich repeat transmembrane protein kinase, putative	3.59	11.74	4.48
ATIG55240.1	unknown protein	2.22	1.88	1.07	ATIG72580.1	hypothetical protein	3.03	2.21	2.13
ATIG55490.1	expressed protein	3.13	1.38	1.57	ATIG72810.1	germin-like protein	2.23	0.71	1.68
ATIG55490.1	Robisco subunit binding-protein beta subunit	1.18	0.40	0.95	ATIG72890.1	disease resistance protein (TIR-NBS class), putative	2.48	2.65	1.82
ATIG55650.1	unknown protein	2.11	1.83	5.47	ATIG72900.1	disease resistance protein (TIR-NBS class), putative	0.30	3.05	1.33
ATIG55670.1	photosystem I subunit V precursor, putative	1.53	0.48	0.80	ATIG73010.1	expressed protein	19.13	19.55	3.30
ATIG55800.1	unknown protein	0.49	0.59	0.50	ATIG73220.1	putative transporter	11.33	11.31	1.92
ATIG55920.1	serine acetyltransferase	0.87	2.80	1.17	ATIG73260.1	putative trypsin inhibitor	1.08	4.10	0.82
ATIG55950.1	hypothetical protein	0.62	0.87	0.28	ATIG73325.1	similar to Dr4(protease inhibitor)	3.72	1.80	0.74
ATIG56380.1	purple acid phosphatase, putative	2.05	1.35	1.72	ATIG73330.1	Dr4(protease inhibitor)	2.71	1.74	2.48
ATIG56430.1	nicotianamine synthase, putative	0.43	0.36	1.11	ATIG73500.1	MAP kinase, putative	1.28	2.45	1.27
ATIG56500.1	expressed protein	1.04	1.80	2.39	ATIG73560.1	lipid transfer protein, putative	0.66	0.30	0.45
ATIG56800.1	water stress-induced protein, putative	1.44	2.38	1.78	ATIG73800.1	methyltransferase, putative	0.74	0.18	0.78
ATIG56710.1	polygalacturonase, putative	1.59	1.34	2.04	ATIG73870.1	CONSTANS B-box zinc finger family protein	1.21	0.30	0.78
ATIG57630.1	disease resistance protein (TIR class), putative	0.82	3.31	1.40	ATIG74010.1	striatosidine synthase family	1.20	3.71	0.92
ATIG57850.1	disease resistance protein (TIR class), putative	1.60	4.56	0.80	ATIG74140.1	hypothetical protein	2.50	2.43	1.60
ATIG57990.1	unknown protein	0.30	2.20	1.33	ATIG74150.1	hypothetical protein	0.48	0.73	1.17
ATIG58280.1	unknown protein	3.08	2.44	1.54	ATIG74210.1	putative glycerophosphodiester phosphodiesterase	1.93	2.26	1.80
ATIG59590.1	expressed protein	0.55	2.73	0.73	ATIG74470.1	geranylgeranyl reductase	1.37	0.43	0.85
ATIG59630.1	hypothetical protein	0.55	0.43	2.97	ATIG74590.1	glutathione transferase, putative	0.42	3.35	0.78
ATIG60230.1	hypothetical protein	2.48	1.03	3.17	ATIG74670.1	GAST1-like protein	1.51	0.22	1.89
ATIG60360.1	hypothetical protein	0.48	0.32	1.01	ATIG74870.1	ribosomal protein S9, putative	1.92	0.43	0.98
ATIG60450.1	galactinol synthase, putative	1.28	4.44	4.48	ATIG75350.1	chloroplast 50S ribosomal protein L31, putative	1.30	0.43	0.93
ATIG60730.1	auxin-induced protein, putative	1.29	2.10	1.09	ATIG75360.1	hypothetical protein	1.26	1.18	3.21
ATIG60950.1	ferrodoxin precursor	1.37	0.46	0.81	ATIG75430.1	homeodomain protein BELL1, putative	4.34	1.45	2.81
ATIG60980.1	gibberellin 20-oxidase, putative	2.38	1.38	2.26	ATIG75690.1	unknown protein	1.10	0.43	0.75
ATIG61120.1	terpene synthase/cyclase family	0.63	1.40	0.49	ATIG75750.1	expressed protein	0.48	0.43	0.28
ATIG61340.1	late embryogenesis abundant protein, putative	0.78	2.03	1.09	ATIG75830.1	plant defense protein, putative (PDF1.1)	1.89	1.83	2.61
ATIG61520.1	light-harvesting chlorophyll a/b binding protein	1.42	0.44	1.03	ATIG75890.1	family II extracellular lipase 2 (EKL2)	0.85	1.13	2.27
ATIG61580.1	Mlo protein, putative	0.53	2.54	1.19	ATIG75910.1	family II extracellular lipase 4 (EKL4)	0.87	0.85	5.24
ATIG61700.1	DNA polymerase II subunit (hSPBP10), putative	2.01	2.39	1.00	ATIG76080.1	chloroplast drought-induced stress protein, putative	2.11	0.81	1.04
ATIG61800.1	glucose-6-phosphate/phosphate-translocator precursor, putative	1.08	5.33	8.35	ATIG76410.1	putative RING zinc finger protein	1.10	2.70	1.21
ATIG61950.1	calcium-dependent protein kinase, putative	1.13	5.19	1.34	ATIG76430.1	putative phosphate transporter	1.08	2.07	2.08
ATIG62080.1	expressed protein	2.11	1.21	1.64	ATIG76490.1	8-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase (AA 1-592)	2.40	1.43	1.31
ATIG62190.1	hypothetical protein	1.80	1.20	2.81	ATIG76520.1	expressed protein	0.87	2.28	1.85
ATIG62280.1	hypothetical protein	1.87	1.25	2.52	ATIG76600.1	expressed protein	0.77	2.13	0.83
ATIG62530.1	hypothetical protein	2.48	1.20	2.55	ATIG76890.1	12-oxophylodienate reductase (OPR2)	0.82	2.83	0.88
ATIG62540.1	similar to flavin-binding monooxygenase-like protein (Z71258); similar to ESTs gb130018 and gb138688	1.65	2.03	2.03	ATIG76930.1	expressed protein	0.35	2.33	0.67
ATIG62580.1	hypothetical protein	1.12	1.26	2.81	ATIG77230.1	unknown protein	0.85	0.58	2.02
ATIG62670.1	PPF-repeat protein	1.75	2.34	1.37	ATIG77390.1	l-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase (ACC oxidase), putative	1.00	2.32	1.49
ATIG62710.1	beta-VPE	1.03	2.21	2.53	ATIG77390.1	amino acid carrier, putative	0.76	2.25	0.79
ATIG62720.1	PPF-repeat protein	2.07	1.81	0.94	ATIG77910.1	hypothetical protein	4.23	1.39	1.88
ATIG62850.1	hypothetical protein	4.07	1.83	2.45	ATIG78000.1	high affinity sulphate transporter, putative	0.65	3.77	0.80
ATIG63430.1	DNA-binding protein, putative	1.81	1.87	3.80	ATIG78170.1	unknown protein	3.39	1.18	1.88

ゲノム生物学的手法による植物のリン酸応答機構に関する研究

GeneName	Description	24hr	48hr	72hr	GeneName	Description	24hr	48hr	72hr
AT1G78340.1	glutathione transferase, putative	0.42	0.51	0.44	AT2G21780.1	WGA protein	1.55	0.51	1.81
AT1G78370.1	glutathione transferase, putative	1.57	0.44	0.94	AT2G22810.1	L-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase (ACS)	2.91	1.54	0.96
AT1G78380.1	glutathione transferase, putative	1.01	0.08	0.07	AT2G22820.1	hypothetical protein	2.28	1.40	2.55
AT1G78390.1	putative	0.59	0.59	0.40	AT2G22830.1	putative serine carboxypeptidase I	1.30	0.45	0.81
AT1G78410.1	expressed protein	0.56	2.55	0.71	AT2G22900.1	putative serine carboxypeptidase I	1.41	0.40	0.94
AT1G78430.1	ribosomal protein L13, putative	1.43	0.40	0.30	AT2G23220.1	cytochrome p450, putative	1.68	2.09	4.55
AT1G78820.1	glycoprotein (EP1), putative	2.31	1.25	1.46	AT2G23510.1	hydroxycinnamoyl/benzoyltransferase	0.43	0.59	0.51
AT1G78890.1	expressed protein	2.22	4.01	1.06	AT2G23550.1	putative acetone-oxanohydrin lyase	1.68	0.41	0.94
AT1G78850.1	glycoprotein (EP1), putative	0.89	2.12	1.08	AT2G23670.1	expressed protein	0.97	0.43	0.75
AT1G78840.1	hypothetical protein	1.02	0.84	2.78	AT2G23790.1	hypothetical protein	1.45	2.18	2.70
AT1G78970.1	lipoel synthase (LUP1)	1.40	1.09	1.01	AT2G23800.1	putative non-17S retroelement reverse transcriptase	0.97	0.94	2.01
AT1G79040.1	photosystem II polypeptide, putative	1.59	0.47	0.90	AT2G24090.1	putative chloroplast ribosomal protein L35	1.18	0.40	0.93
AT1G79850.1	precursor (CS17)	1.29	0.49	0.99	AT2G24000.1	expressed protein	1.10	2.28	1.52
AT1G80180.1	expressed protein	4.21	2.66	4.10	AT2G24720.1	putative ligand-gated ion channel protein	2.44	1.04	2.47
AT1G80210.1	hypothetical protein	1.24	1.01	0.36	AT2G24800.1	putative tyrosine aminotransferase	1.42	0.55	0.33
AT1G80440.1	VSR family transcription factor	0.85	2.17	0.35	AT2G25150.1	unknown protein	2.22	1.34	1.34
AT1G80980.1	hypothetical protein	1.98	2.05	2.24	AT2G25360.1	hypothetical protein	0.50	0.78	0.84
AT2G01760.1	putative two-component response regulator protein	0.70	0.47	0.39	AT2G25480.1	expressed protein	0.30	2.45	0.80
AT2G02150.1	plant defense protein, putative (PDF2.3)	1.43	2.79	2.58	AT2G25500.1	expressed protein	1.51	0.40	0.80
AT2G02690.1	CHP-rich zinc finger protein, putative	0.69	0.68	0.50	AT2G25530.1	AR81, similar to yeast pheromone receptor	1.02	4.15	1.03
AT2G02990.1	glutathione transferase, putative	0.06	2.12	0.95	AT2G25560.1	patatin, putative	0.45	10.07	0.84
AT2G02990.1	ribonuclease, BNG1	2.98	15.06	10.90	AT2G25660.1	unknown protein	2.58	1.31	1.42
AT2G03020.1	predicted by genefinder	1.95	2.77	2.38	AT2G27080.1	expressed protein	0.84	2.10	1.02
AT2G03420.1	hypothetical protein	1.25	0.36	0.30	AT2G27190.1	purple acid phosphatase precursor	4.11	2.11	1.50
AT2G03550.1	putative esterase	1.29	0.50	0.92	AT2G27220.1	homeodomain protein	2.24	1.29	1.97
AT2G03740.1	putative cold-regulated protein	2.67	2.26	1.77	AT2G27280.1	unknown protein	2.48	1.53	4.21
AT2G03750.1	putative steroid sulfotransferase	1.27	0.32	0.30	AT2G27570.1	putative flavonol sulfotransferase	2.21	2.36	1.05
AT2G04090.1	putative heat shock protein	0.40	0.49	0.94	AT2G28000.1	putative rubisco subunit binding-protein alpha subunit	1.03	0.40	0.93
AT2G04098.1	unknown protein	1.25	0.45	0.35	AT2G28400.1	hypothetical protein	1.01	2.22	1.08
AT2G04180.1	subtilisin-like serine protease A1R9	1.50	5.09	1.15	AT2G28490.1	putative acid esterase protein	0.43	0.77	0.62
AT2G04460.1	putative retroelement pol polyprotein	2.53	2.04	2.15	AT2G28660.1	cytochrome p450, putative	2.22	1.52	1.29
AT2G04840.1	hypothetical protein	2.18	1.81	2.18	AT2G28950.1	expansin, putative	1.78	0.88	2.22
AT2G04760.1	putative non-LTR retroelement reverse transcriptase	1.98	1.14	2.08	AT2G28970.1	leucine-rich repeat transmembrane protein kinase, putative	1.46	2.08	1.29
AT2G05310.1	expressed protein	1.19	0.44	0.89	AT2G28980.1	putative non-LTR retroelement reverse transcriptase	1.18	2.18	1.34
AT2G05390.1	expressed protein	2.47	0.91	0.87	AT2G29100.1	putative ligand-gated ion channel protein	1.58	2.30	1.70
AT2G05440.1	putative glycine-rich protein	1.03	2.18	0.37	AT2G29170.1	putative tropinone reductase	0.60	0.87	0.46
AT2G05510.1	putative glycine-rich protein	1.28	2.04	0.86	AT2G29180.1	unknown protein	1.11	0.47	1.02
AT2G05520.1	putative glycine-rich protein	1.34	2.46	1.95	AT2G29290.1	putative tropinone reductase	0.74	0.29	0.93
AT2G06260.1	putative Athila retroelement ORF1 protein	2.62	1.75	2.28	AT2G29310.1	putative tropinone reductase	0.96	0.40	1.45
AT2G06520.1	expressed protein	1.19	0.49	0.72	AT2G29350.1	putative tropinone reductase	1.09	2.75	0.98
AT2G07320.1	Mutator-like transposase	1.06	1.41	2.20	AT2G29420.1	glutathione transferase, putative	0.77	2.89	0.76
AT2G07740.1	putative Tall-like non-LTR retroelement protein	1.11	0.79	2.19	AT2G29440.1	glutathione transferase, putative	2.87	1.80	1.25
AT2G01080.1	putative retroelement pol polyprotein	0.17	1.41	2.02	AT2G29460.1	glutathione transferase, putative	1.02	4.70	0.78
AT2G10105.1	similar to Athila ORF 1, putative	2.24	2.21	10.49	AT2G29470.1	glutathione transferase, putative	1.05	2.12	0.82
AT2G10670.1	putative Athila retroelement ORF1 protein	1.56	1.27	2.91	AT2G29480.1	glutathione transferase, putative	0.80	3.12	0.66
AT2G10940.1	expressed protein	1.36	0.42	1.23	AT2G29490.1	glutathione transferase, putative	1.08	5.19	1.20
AT2G11910.1	putative monoglucosylidicacylglycerol synthase	14.03	11.80	3.18	AT2G30140.1	putative glucosyltransferase	0.81	2.11	1.07
AT2G12340.1	putative VSF-1-like b-ZIP transcription factor	1.42	2.62	1.96	AT2G30540.1	putative glutaredoxin	1.94	4.09	2.18
AT2G12315.1	similar to bZIP protein	2.40	1.83	1.44	AT2G30550.1	putative lipase	1.02	2.33	1.23
AT2G12360.1	glutathione transferase	1.92	0.39	0.35	AT2G30750.1	cytochrome p450 family	2.24	10.24	0.43
AT2G13510.1	protein	1.07	0.84	2.15	AT2G30770.1	cytochrome p450 family	0.30	2.55	1.21
AT2G14510.1	putative receptor-like protein kinase	1.06	1.81	2.18	AT2G31550.1	putative DGG1-motif lipase/hydrolase	1.69	1.09	2.44
AT2G14970.1	ERM-containing protein	2.07	1.81	4.31	AT2G31770.1	putative ABI-like HING zinc finger protein	2.25	1.47	2.92
AT2G14320.1	putative steroid sulfotransferase	2.05	1.37	1.56	AT2G31910.1	putative Na ⁺ /K ⁺ antiporter	2.30	1.53	1.31
AT2G15050.1	putative lipid transfer protein	2.38	0.87	1.20	AT2G32140.1	disease resistance protein (TIR class), putative	1.32	2.84	1.35
AT2G15070.1	Em/Gpa-like transposon protein	2.22	1.41	2.10	AT2G32180.1	hypothetical protein	1.04	0.85	1.07
AT2G15090.1	fatty acid elongase 1 (FAE1), putative	1.18	0.89	2.18	AT2G32450.1	putative O-GlcNAc transferase	0.52	0.81	0.45
AT2G15100.1	putative retroelement pol polyprotein	2.38	2.60	1.10	AT2G32570.1	unknown protein	1.68	0.90	2.08
AT2G15100.1	hypothetical protein	1.65	1.05	2.20	AT2G32930.1	putative phosphate transporter	1.66	2.04	1.66
AT2G15120.1	expressed protein	0.26	2.15	0.45	AT2G33000.1	leucine rich repeat protein family	2.26	2.40	2.86
AT2G15370.1	xyloglucan fucosyltransferase, putative	1.18	2.40	1.18	AT2G33180.1	unknown protein	0.82	0.56	0.68
AT2G15460.1	polygalacturonase, putative	2.32	2.33	1.97	AT2G33430.1	plantid protein	0.81	0.49	0.94
AT2G15470.1	polygalacturonase, putative	2.78	1.41	2.35	AT2G33770.1	E2, ubiquitin-conjugating enzyme	2.34	1.22	1.18
AT2G15480.1	putative glucosyltransferase	0.70	2.17	0.90	AT2G33790.1	putative proline-rich protein	1.68	2.39	2.82
AT2G15490.1	putative glucosyltransferase	0.80	2.72	0.99	AT2G33800.1	30S ribosomal protein S5	1.02	0.43	0.98
AT2G15810.1	Mutator-like transposase	1.42	0.65	2.15	AT2G33950.1	expressed protein	1.04	2.09	1.47
AT2G18060.1	class I non-symbiotic hemoglobin (AHB1)	0.45	0.82	0.72	AT2G34210.1	putative transcription elongation factor	2.23	2.21	2.35
AT2G18220.1	hypothetical protein	2.64	1.34	1.64	AT2G34490.1	photosystem II type I chlorophyll a/b binding protein	1.20	0.20	0.57
AT2G18365.1	similar to F-box protein family	1.27	0.83	2.17	AT2G34490.1	cytochrome p450 family	2.28	1.04	1.03
AT2G18320.1	putative protein kinase	2.64	1.31	2.54	AT2G34510.1	FAD-binding oxidoreductase family	1.38	2.43	1.75
AT2G18680.1	nodulin-like protein	0.67	0.95	0.48	AT2G35350.1	hypothetical protein	0.67	0.77	0.31
AT2G18810.1	F-box protein family, AFBK8	2.21	1.14	0.93	AT2G35370.1	glycine decarboxylase complex H-protein	2.07	0.51	1.10
AT2G17040.1	NAM (no apical meristem)-like protein	1.24	2.04	1.71	AT2G35370.1	putative serpin	1.43	1.38	2.48
AT2G17240.1	expressed protein	0.80	0.48	0.71	AT2G35500.1	expressed protein	1.05	2.23	1.05
AT2G17260.1	unknown protein	1.62	2.03	2.54	AT2G35740.1	putative sugar transporter	0.52	0.50	0.64
AT2G17470.1	unknown protein	2.08	0.73	1.42	AT2G35990.1	putative calcium-dependent protein kinase	2.34	1.50	2.61
AT2G17500.1	expressed protein	1.27	2.08	1.07	AT2G36290.1	putative ATP-dependent RNA helicase A	1.42	1.09	1.07
AT2G17580.1	putative poly(A) polymerase	1.31	1.41	2.39	AT2G36330.1	unknown protein	0.52	2.59	0.63
AT2G17850.1	sensitization-associated protein	0.92	0.63	0.49	AT2G36900.1	auxin-regulated protein	0.88	0.43	0.93
AT2G17890.1	putative Ca ²⁺ -dependent ser/thr protein kinase	1.50	2.50	0.82	AT2G36980.1	ABC transporter family protein	1.08	2.42	1.10
AT2G17940.1	expressed protein	1.44	2.43	1.52	AT2G36570.1	leucine-rich repeat transmembrane protein kinase, putative	1.19	1.15	2.11
AT2G18050.1	histone H1	2.89	1.07	1.19	AT2G36990.1	unknown protein	1.06	1.05	2.08
AT2G18370.1	putative lipid transfer protein	1.01	2.38	1.34	AT2G36970.1	putative glucosyltransferase	2.24	2.43	1.88
AT2G18470.1	putative protein kinase	2.28	1.01	1.07	AT2G36990.1	putative RNA polymerase sigma-70 factor	1.09	0.46	0.90
AT2G18580.1	Ac-like transposase	0.51	0.44	0.88	AT2G37220.1	chloroplast RNA-binding protein cp29, putative	1.07	0.47	0.99
AT2G18660.1	hypothetical protein	2.88	7.24	2.84	AT2G37420.1	kinesin-related protein	2.28	1.63	1.11
AT2G18890.1	expressed protein	0.84	0.60	1.26	AT2G37450.1	nodulin-like protein	0.87	0.40	0.99
AT2G18720.1	subunit, putative	0.45	0.74	0.74	AT2G37780.1	expressed protein	1.22	0.43	0.93
AT2G18980.1	peroxidase, putative	0.85	2.22	1.49	AT2G37770.1	aldol/keto reductase family	1.17	2.10	2.29
AT2G19190.1	putative receptor-like protein kinase	0.99	2.51	0.94	AT2G37970.1	expressed protein	1.19	2.99	1.87
AT2G20470.1	putative protein kinase	0.59	0.49	0.69	AT2G37980.1	similar to axi 1 protein from Nicotiana tabacum	1.39	2.70	1.62
AT2G20625.1	hypothetical protein	2.51	1.09	2.29	AT2G38140.1	30S ribosomal protein S31	1.20	0.44	0.86
AT2G20670.1	expressed protein	2.49	1.41	1.51	AT2G38470.1	HMG family transcription factor	0.60	2.95	1.06
AT2G21020.1	putative major intrinsic (channel) protein	0.73	2.00	0.93	AT2G38540.1	putative nonspecific lipid-transfer protein	2.81	1.86	2.65
AT2G21045.1	sensitization-associated protein	1.00	2.00	1.20	AT2G38940.1	putative auxinylate binding protein	1.43	2.63	1.19
AT2G21210.1	putative auxin-regulated protein	0.86	0.41	0.49	AT2G38970.1	putative protease inhibitor	0.68	4.95	0.58
AT2G21295.1	similar to NF1 protein	2.38	2.38	1.90	AT2G38940.1	phosphate transporter (ATP72)	2.48	0.16	2.48
AT2G21300.1	putative kinesin heavy chain	2.05	1.29	1.12	AT2G39030.1	expressed protein	2.20	1.12	0.89
AT2G21390.1	putative fructose bisphosphate aldolase	2.24	0.29	0.75	AT2G39210.1	nodulin-like protein	0.52	2.79	1.07
AT2G21420.1	Mutator-like transposase	0.59	0.64	0.49	AT2G39210.1	putative myosin-binding protein	2.42	2.04	1.47
AT2G21590.1	unknown protein	1.35	0.48	0.77	AT2G39330.1	putative myosin-binding protein	1.44	0.82	0.48
AT2G21550.1	myb family transcription factor	2.55	2.18	1.91	AT2G39400.1	putative phospholipase	0.58	1.95	0.79
AT2G21690.1	ERM-containing protein	2.59	0.71	0.30	AT2G39470.1	putative	1.20	0.43	0.76
AT2G21820.1	expressed protein	2.64	1.55	2.18	AT2G39890.1	hypothetical protein	1.49	3.12	0.79
AT2G22290.1	GTP-binding protein, putative	2.01	2.15	2.18	AT2G39730.1	auxin-regulated protein	1.97	0.85	0.65
AT2G22470.1	arabinogalactan protein (AGP2)	0.99	2.02	1.20	AT2G39800.1	delta-1-pyrroline 5-carboxylase synthetase (P5C)	2.74	3.03	2.34
AT2G22500.1	mitochondrial carrier protein family	0.98	2.14	1.50	AT2G40000.1	putative neomycin-resistance protein	1.01	2.52	1.18

GeneName	Description	24hr	48hr	72hr	GeneName	Description	24hr	48hr	72hr
AT2G04140.1	putative COOH-type zinc finger protein	0.89	2.18	0.99	AT3G11830.1	putative 2-cys peroxiredoxin BAS1 precursor (thiol-specific antioxidant protein)	1.21	0.43	0.77
AT2G04060.1	putative PFB2 family peptide transporter	1.51	1.84	2.31	AT3G11820.1	syntaxin SYP121	0.93	2.25	1.24
AT2G04070.1	expressed protein	2.42	1.69	1.69	AT3G12230.1	serine carboxypeptidase, putative	0.91	2.01	0.67
AT2G04070.1	BZIP family transcription factor	2.66	2.22	1.80	AT3G12500.1	glycosyl hydrolase family 19 (basic endochitinase)	0.86	4.53	1.48
AT2G04100.1	calmodulin-like protein	0.95	2.72	1.48	AT3G12880.1	hypothetical protein	2.34	3.80	2.10
AT2G04120.1	unknown protein	0.65	2.28	1.50	AT3G13000.1	hypothetical protein	0.63	0.49	1.14
AT2G04130.1	putative embryo-abundant protein	0.69	4.61	1.53	AT3G13110.1	serine acetyltransferase (Sat-1)	2.49	2.34	1.76
AT2G04160.1	peroxidase, putative	2.32	1.85	1.22	AT3G13810.1	DnaJ protein, putative	1.22	5.14	1.25
AT2G04160.1	putative calcium-transporting ATPase 4, plasma membrane-type (Ca2+-ATPase, isoform 4)	0.73	0.49	0.80	AT3G13810.1	2-oxoglutarate-dependent dioxygenase family	0.46	1.88	0.90
AT2G04190.1	putative Tall-like non-LTR retroelement protein	2.47	1.04	1.30	AT3G13882.1	disease resistance response protein-related/ dirigent protein-related	0.80	0.39	0.67
AT2G04160.1	expressed protein	0.66	2.04	0.85	AT3G13780.1	glycosyl hydrolase family 82	0.78	3.34	0.80
AT2G04160.1	expressed protein	1.23	2.05	1.51	AT3G14370.1	putative protein kinase	2.57	1.53	2.72
AT2G04180.1	unknown protein	0.61	0.84	0.87	AT3G14415.1	glycolate oxidase	1.40	0.49	0.82
AT2G04190.1	putative C2H2-type zinc finger protein	1.49	0.47	1.09	AT3G14420.1	glycolate oxidase, putative	1.89	0.39	0.86
AT2G04240.1	cold-regulated protein cor15a precursor	2.34	0.84	2.43	AT3G14440.1	phosphoenolpyruvate carboxylase (PEP)	1.21	2.38	1.98
AT2G04260.1	phosphoenolpyruvate carboxylase	2.10	1.13	1.06	AT3G14990.1	4-methyl-5(b-hydroxyethyl)-thiazole monophosphate biosynthesis protein, putative	1.15	2.48	1.21
AT2G04280.1	putative lipase	2.84	1.55	1.88	AT3G15190.1	SOS ribosomal protein S20	1.25	0.40	0.95
AT2G04290.1	hypothetical protein	2.32	1.07	2.03	AT3G15270.1	squamosa promoter binding protein-like 5	1.11	0.46	0.78
AT2G04290.1	floral homeodomain transcription factor (AGL)	0.60	2.05	0.80	AT3G15920.1	myb family protein	1.82	1.14	2.43
AT2G04290.1	glycosyl hydrolase family 17	1.65	1.85	2.50	AT3G15958.1	similar to putative lectin	1.06	0.94	0.39
AT2G04300.1	NAM (no apical meristem)-like protein	0.34	2.38	1.23	AT3G15880.1	thioredoxin m4	1.27	0.46	0.75
AT2G04300.1	SOS ribosomal protein L8	1.22	0.44	0.94	AT3G15970.1	non-phototropic hypocotyl protein, putative	1.20	0.49	0.73
AT2G04310.1	similar to pirin-like protein	1.08	2.10	1.12	AT3G15920.1	S-4 photolase (UVE3)	0.93	0.48	1.44
AT2G04310.1	putative trypsin inhibitor	1.20	4.86	1.71	AT3G15850.1	fatty acid desaturase family protein	0.97	0.30	0.71
AT2G04350.1	putative trypsin inhibitor	2.11	1.18	0.74	AT3G15870.1	fatty acid desaturase family protein	0.72	0.45	0.74
AT2G04360.1	isomerase	1.20	0.42	0.89	AT3G15990.1	putative sulfate transporter	1.77	2.82	1.59
AT2G04370.1	glycosyl hydrolase family 19 (chitinase)	0.68	5.11	1.13	AT3G16030.1	putative receptor kinase	0.48	1.27	0.80
AT2G04380.1	glycosyl hydrolase family 19 (chitinase)	0.88	5.37	1.89	AT3G16240.1	delta tonoplast integral protein (delta-TIP)	1.68	0.77	2.18
AT2G04380.1	glycosyl hydrolase family 19 (chitinase)	0.88	4.24	1.05	AT3G16250.1	putative 2Fe-2S iron-sulfur cluster protein	4.05	0.45	1.14
AT2G04380.1	glycosyl hydrolase family 19 (chitinase)	0.61	2.01	0.83	AT3G16380.1	putative two-component phosphorelay mediator	2.34	1.47	4.87
AT2G04390.1	putative receptor protein kinase	1.40	2.05	1.16	AT3G16390.1	putative lectin	1.29	2.28	1.00
AT2G04390.1	polygalacturonase, putative	2.46	1.47	2.35	AT3G16390.1	sucrose transporter, putative	0.88	0.74	0.38
AT2G04450.1	glycosyl hydrolase family 1	1.19	2.25	1.24	AT3G16890.1	MUN-like protein	1.06	2.38	0.88
AT2G04450.1	putative phragmoplastin	1.56	1.13	2.39	AT3G16920.1	glycosyl hydrolase family 19 (chitinase)	1.12	1.70	2.30
AT2G04480.1	putative triacylglycerol lipase	1.02	0.38	2.58	AT3G17270.1	F-box protein family	1.01	2.19	2.32
AT2G04500.1	hypothetical protein	2.38	2.48	1.51	AT3G17270.1	unknown protein	2.44	1.19	2.65
AT2G04510.1	putative auxin-regulated protein	0.98	2.07	1.09	AT3G17800.1	putative auxin-induced protein	0.80	0.47	0.76
AT2G04520.1	pectinesterase family	0.96	2.04	1.18	AT3G17790.1	acid phosphatase type 5	2.19	2.86	1.52
AT2G04620.1	Expressed protein	2.20	1.73	1.35	AT3G18800.1	methyltransferase, putative	0.97	1.98	2.27
AT2G04680.1	hypothetical protein	2.45	2.88	0.89	AT3G18900.1	glycosyl hydrolase family 1	2.00	2.06	2.25
AT2G04680.1	BHM protein	2.02	1.03	0.77	AT3G18110.1	hypothetical protein	1.04	0.50	0.92
AT2G04680.1	expressed protein	1.28	0.46	0.79	AT3G18170.1	hypothetical protein	1.80	2.13	1.28
AT2G04700.1	ABC transporter family protein	0.94	2.08	1.21	AT3G18200.1	integral membrane protein, putative	1.08	1.79	2.10
AT2G04700.1	putative pectinesterase	2.89	3.79	1.28	AT3G18390.1	unknown protein	1.10	0.47	0.90
AT2G04710.1	putative alcohol dehydrogenase	1.05	2.53	1.38	AT3G18510.1	hypothetical protein	2.01	2.38	2.47
AT2G04740.1	cytokinin-responsive histidine kinase (CKI1)	1.23	2.33	1.35	AT3G18810.1	nucleolin, putative	0.97	0.38	0.95
AT2G04750.1	putative AP2 domain transcription factor	1.01	2.80	1.24	AT3G18890.1	uridylylate kinase, putative	0.98	0.37	0.80
AT2G04790.1	expressed protein	1.55	0.45	0.71	AT3G18910.1	protein kinase, putative	0.50	0.33	0.74
AT2G04860.1	unknown protein	1.94	1.11	2.25	AT3G18990.1	sucrose transporter, putative	0.80	2.08	1.02
AT3G01290.1	expressed protein	0.84	2.88	1.84	AT3G18430.1	putative late embryogenesis abundant protein	1.28	1.88	2.10
AT3G01420.1	lebbly-like protein	2.54	2.88	0.83	AT3G18990.1	zinc finger protein, putative	0.99	2.48	0.78
AT3G01480.1	thylakoid lumen rotase	1.44	0.44	0.94	AT3G18730.1	dynamis-like protein	1.67	0.45	0.85
AT3G01500.1	carbonic anhydrase, chloroplast precursor	2.60	0.35	1.51	AT3G18930.1	monosaccharide transport protein, STP4	0.80	2.07	0.90
AT3G01890.1	expressed protein	0.38	2.53	0.81	AT3G19440.1	putative monosaccharide transport protein, STP4	1.78	2.53	1.11
AT3G02040.1	expressed protein	2.25	2.82	1.84	AT3G20150.1	kinesin-like protein	1.81	1.15	2.07
AT3G02820.1	putative sterol-acyl carrier protein desaturase	3.29	1.23	1.98	AT3G20230.1	expressed protein	1.12	0.50	0.89
AT3G02840.1	expressed protein	0.52	2.14	0.87	AT3G20450.1	expressed protein	2.82	1.28	2.14
AT3G02870.1	putative myo-inositol monophosphatase	2.85	1.88	1.61	AT3G20890.1	unknown protein	0.84	0.48	0.89
AT3G03150.1	expressed protein	2.17	1.24	1.17	AT3G20895.1	arabinoxylan-protein, putative (AGP)	2.88	2.85	4.01
AT3G03200.1	NAM-like protein (no apical meristem)	2.80	2.27	1.61	AT3G20840.1	cytochrome P450, putative	2.48	1.21	1.41
AT3G03260.1	homeodomain protein	1.27	2.02	2.54	AT3G20990.1	unknown protein	1.11	2.08	1.14
AT3G03910.1	expressed protein	1.91	2.38	1.55	AT3G21230.1	putative 4-oxoglutarate:CoA ligase 2	1.13	2.19	1.08
AT3G03405.1	similar to type 2 peroxiredoxin, putative	1.87	1.82	2.20	AT3G21500.1	1-b-deoxyxylulose 5-phosphate synthase, putative	1.17	5.48	0.97
AT3G03830.1	O-acetylserine (thiol) lyase	0.82	0.31	0.93	AT3G21520.1	hypothetical protein	0.77	2.64	1.09
AT3G03870.1	peroxidase, putative	0.28	1.11	0.80	AT3G21550.1	expressed protein	1.40	2.04	2.02
AT3G03710.1	putative polyribonucleotide nucleotidyltransferase	0.91	0.39	0.96	AT3G21580.1	UDF-glucosyltransferase, putative	1.03	3.01	2.51
AT3G03790.1	unknown protein	2.64	3.69	2.29	AT3G21620.1	unknown protein	1.15	2.39	2.28
AT3G03830.1	putative auxin-induced protein	0.78	0.89	0.42	AT3G21870.1	nitrate transporter	2.12	0.48	0.92
AT3G03840.1	putative auxin-induced protein	1.15	1.25	2.04	AT3G21780.1	putative UDP-glucose glucosyltransferase	0.55	2.21	0.79
AT3G04050.1	putative pyruvate kinase	2.89	2.62	1.79	AT3G22080.1	glucosyltransferase	0.82	2.49	1.11
AT3G04070.1	NAM-like protein (no apical meristem)	0.65	2.68	0.83	AT3G22180.1	expressed protein	0.76	2.08	0.96
AT3G04100.1	MADS-box protein	1.23	1.53	3.08	AT3G22210.1	expressed protein	0.97	0.42	0.71
AT3G04210.1	disease resistance protein (TIR-NBS class), putative	2.35	3.78	2.23	AT3G22370.1	alternative oxidase 1a precursor	0.90	2.91	1.44
AT3G04290.1	putative GDSL-motif lipase/acylhydrolase	1.30	1.47	2.22	AT3G22740.1	putative selenocysteine methyltransferase	2.18	1.12	1.09
AT3G04320.1	putative trypsin inhibitor	1.18	2.11	1.22	AT3G22810.1	disease resistance protein family	2.83	0.70	1.79
AT3G04380.1	expressed protein	0.81	2.68	1.88	AT3G22820.1	ethylene responsive element binding protein, putative	1.01	2.85	0.78
AT3G04550.1	phosphoenolpyruvate carboxylase kinase	2.22	2.37	2.06	AT3G23240.1	ethylene response factor 1 (ERF1)	0.97	2.82	1.98
AT3G04550.1	expressed protein	1.19	0.40	0.94	AT3G23270.1	hypothetical protein	1.79	1.88	2.57
AT3G04640.1	expressed protein	1.14	2.05	1.61	AT3G23700.1	expressed protein	1.11	0.45	0.71
AT3G04720.1	hevin-like protein precursor (PR-4)	1.93	3.41	2.12	AT3G24210.1	hypothetical protein	1.97	2.24	1.90
AT3G05180.1	putative nodulin	1.08	0.47	0.76	AT3G24230.1	polysaccharide lyase family 1 (pectate lyase)	1.29	2.49	1.14
AT3G05830.1	phospholipase B family	2.67	2.30	1.98	AT3G24340.1	hypothetical protein	2.15	1.20	1.98
AT3G05640.1	protein phosphatase 2C (PP2C), putative	1.76	2.31	1.85	AT3G24715.1	hypothetical protein	1.55	1.24	2.69
AT3G05750.1	hypothetical protein	0.48	0.70	0.83	AT3G25250.1	protein kinase, putative	0.88	2.88	0.82
AT3G05790.1	Lon protease, putative	0.88	2.23	1.63	AT3G25490.1	rhodanese-like domain protein	0.75	0.49	1.00
AT3G06780.1	thioredoxin, putative	0.84	0.49	0.89	AT3G25730.1	AP2 domain transcription factor BAV, putative	1.02	2.00	1.29
AT3G07350.1	expressed protein	2.17	2.78	2.00	AT3G25770.1	expressed protein	2.89	1.23	0.98
AT3G07810.1	hypothetical protein	0.58	0.48	0.35	AT3G25780.1	expressed protein	2.88	4.86	4.31
AT3G07840.1	expressed protein	1.00	0.30	0.88	AT3G25805.1	Expressed protein	0.94	0.40	0.76
AT3G08240.1	putative elongation factor P (EF-P)	1.04	0.33	0.66	AT3G25930.1	myrcene/ocimene synthase, putative	1.96	2.02	1.32
AT3G08870.1	putative DnaJ protein	0.88	2.67	1.74	AT3G25833.1	similar to myrcene/ocimene synthase, putative	2.11	2.28	1.63
AT3G09270.1	glutathione transferase, putative	0.64	3.61	0.85	AT3G25950.1	GMP-rich zinc finger protein, putative	1.82	1.03	2.34
AT3G09560.1	unknown protein	1.79	2.04	1.49	AT3G25920.1	SOS ribosomal protein L15, chloroplast precursor	1.32	0.38	0.87
AT3G09880.1	B regulatory subunit of PP2A (AtBbeta)	2.14	1.15	1.45	AT3G26080.1	putative peroxiredoxin	1.77	0.35	0.95
AT3G09840.1	monodehydroascorbate reductase, putative	0.72	0.77	0.81	AT3G26120.1	RNA-binding terminal ear1 protein, putative	1.00	0.69	2.22
AT3G10060.1	isomerase, putative	1.28	0.45	0.80	AT3G26180.1	cytochrome p450 family	1.38	1.38	2.19
AT3G10150.1	hypothetical protein	2.05	4.24	3.52	AT3G26210.1	cytochrome P450 family	0.57	2.02	0.76
AT3G10820.1	unknown protein	1.28	2.64	0.85	AT3G26310.1	cytochrome p450 family	2.68	1.84	1.11
AT3G10400.1	hypothetical protein	1.14	0.05	0.97	AT3G26470.1	expressed protein	1.04	3.28	0.86
AT3G10420.1	expressed protein	2.27	2.32	1.41	AT3G26520.1	gamma tonoplast intrinsic protein	1.78	0.83	1.53
AT3G10520.1	class 2 non-symbiotic hemoglobin	0.76	0.31	0.38	AT3G26550.1	glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase A subunit (Gap3)	1.78	0.44	0.80
AT3G10585.1	similar to myb family transcription factor	1.14	1.14	3.46	AT3G26775.1	F-box protein	1.14	0.49	0.95
AT3G10930.1	expressed protein	0.91	2.18	0.99	AT3G26830.1	cytochrome p450 family	0.71	2.75	1.10
AT3G11770.1	omega-3 fatty acid desaturase, chloroplast precursor (FAD7)	1.08	0.48	0.88	AT3G26840.1	protein kinase, putative	1.68	0.78	2.31
AT3G11840.1	glucosyl transferase, putative	0.96	2.32	0.78	AT3G27160.1	expressed protein	1.26	0.39	0.82

ゲノム生物学的手法による植物のリン酸応答機構に関する研究

GeneName	Description	24hr	48hr	72hr	GeneName	Description	24hr	48hr	72hr
AT3G27880.1	hypothetical protein	1.10	2.28	0.64	AT3G55330.1	ovate-evolving complex 25.6 kD protein, chloroplast precursor, putative	1.44	0.41	0.80
AT3G27730.1	hypothetical protein	2.75	1.07	3.50	AT3G55970.1	Dof zinc finger protein	1.23	2.03	1.34
AT3G27910.1	myb family transcription factor (ATMYB9)	1.56	1.22	2.11	AT3G55700.1	glucuronosyl transferase - like	0.92	0.99	2.16
AT3G27830.1	SOS ribosomal protein L12-A	1.16	0.45	0.87	AT3G55800.1	sedoheptulose-bisphosphatase precursor	1.59	0.33	0.83
AT3G27940.1	hypothetical protein	2.30	0.89	1.21	AT3G55840.1	nematode resistance protein-like protein	0.99	2.03	0.78
AT3G29040.1	leucine-rich repeat transmembrane protein	0.94	0.46	0.97	AT3G55970.1	2-oxoglutarate-dependent dioxygenase	1.79	2.94	0.61
AT3G28080.1	expressed protein	1.76	1.04	2.17	AT3G55800.1	putative protein	0.94	3.03	1.04
AT3G28270.1	At14a	1.56	0.46	0.81	AT3G56040.1	putative protein	2.65	2.02	1.68
AT3G28290.1	At14a	1.39	0.46	0.81	AT3G56420.1	putative protein	0.40	0.43	0.60
AT3G28320.1	At14a-like protein	1.35	2.09	1.10	AT3G56910.1	ribosomal protein, chloroplast	1.24	0.35	0.79
AT3G28945.1	Psilocoprotein, putative	0.77	2.65	1.04	AT3G57020.1	striatolindine synthase-related	1.25	2.15	1.10
AT3G28490.1	family	1.25	1.83	2.61	AT3G57450.1	putative protein	0.93	2.16	1.06
AT3G28520.1	hypothetical protein	0.65	0.48	0.53	AT3G57795.1	Expressed protein	3.64	0.79	2.84
AT3G28740.1	cytochrome p450 family	1.77	3.62	0.81	AT3G58550.1	putative protein	1.04	2.24	1.25
AT3G28250.1	putative	1.35	2.43	1.34	AT3G58820.1	putative protein	0.41	0.72	1.05
AT3G28340.1	hypothetical protein	0.80	0.36	1.44	AT3G58810.1	zinc transporter -like protein	1.12	2.35	1.35
AT3G28970.1	gene_id:K17E7.15 unknown protein	0.44	1.15	0.63	AT3G58940.1	ABC transporter family protein	1.81	2.57	2.18
AT3G30140.1	unknown protein	2.91	1.26	2.39	AT3G59220.1	pirin-like protein	1.08	2.24	2.67
AT3G31890.1	hypothetical protein	5.22	1.31	2.04	AT3G59300.1	putative protein	2.95	2.58	1.51
AT3G31890.1	hypothetical protein	0.79	0.72	2.04	AT3G59820.1	putative protein	0.99	0.79	0.49
AT3G32030.1	terpene synthase/cyclase family	1.24	0.87	2.61	AT3G59850.1	polysaccharuronase, putative	1.43	4.07	0.99
AT3G32230.1	transposon-like ORF, putative	2.31	2.39	1.39	AT3G60490.1	transcription factor - like protein	1.42	2.02	1.19
AT3G42434.1	polyprotein, putative	1.86	2.42	1.39	AT3G61120.1	MADS-box protein, AGL13	2.60	0.30	0.36
AT3G42439.1	putative MuIR MUBA transposase	1.69	5.35	1.17	AT3G61190.1	putative protein	0.95	3.18	1.00
AT3G42724.1	F-box protein	1.45	2.00	2.53	AT3G61840.1	hypothetical protein	3.74	1.56	2.83
AT3G42792.1	similar to Mutator-like transposase	1.46	1.17	2.04	AT3G62020.1	sermin-like protein (GLP10)	1.32	2.25	1.78
AT3G43555.1	similar to see GB:AF077408	0.63	0.48	1.07	AT3G62030.1	peptidylprolyl isomerase ROC4	1.30	0.34	0.76
AT3G43625.1	similar to putative Tail-like non-LTR retroelement protein	2.01	2.13	1.32	AT3G62110.1	polysaccharuronase, putative	0.98	0.43	0.88
AT3G43750.1	putative protein	2.31	2.05	2.08	AT3G62550.1	putative protein	1.94	0.38	1.28
AT3G43820.1	putative protein	1.55	2.15	2.68	AT3G63140.1	mRNA binding protein precursor - like	1.64	0.45	0.87
AT3G44260.1	CCR4-associated factor 1-like protein	0.89	3.15	1.03	AT3G63160.1	putative protein	2.05	0.61	1.12
AT3G44300.1	nitrilase 2	1.24	2.50	0.91	AT3G63190.1	putative protein	1.15	0.45	0.91
AT3G44480.1	bZIP protein	2.58	0.84	1.58	AT4G00820.1	contains region of similarity to mouse microtubule-associated protein 2 (PIR:S05487).	1.97	2.50	1.16
AT3G44605.1	putative non-LTR retroelement reverse transcriptase	4.49	1.38	3.11	AT4G01150.1	expressed protein	1.46	0.41	0.74
AT3G44705.1	transcriptase	1.53	1.13	2.47	AT4G01310.1	putative L5 ribosomal protein	1.25	0.38	0.90
AT3G44880.1	methyltransferase-related	1.25	0.73	0.37	AT4G01360.1	hypothetical protein	0.82	2.23	0.81
AT3G44870.1	methyltransferase-related	1.17	0.83	0.35	AT4G01480.1	putative inorganic phosphatase	1.76	2.60	1.84
AT3G44890.1	BP19 gene for chloroplast ribosomal protein C19	1.27	0.48	0.98	AT4G01680.1	myb family transcription factor	2.76	1.70	1.98
AT3G44920.1	putative protein	2.39	5.31	1.68	AT4G01700.1	glycosyl hydrolase family 19 (chitinase)	0.83	3.10	1.16
AT3G45180.1	cycloartenol synthase ((S)-2,3-epoxy) (CAS1), putative	0.74	1.04	0.37	AT4G01970.1	hypothetical protein	0.59	3.20	0.98
AT3G45180.1	hypothetical protein	1.48	1.08	2.32	AT4G02160.1	hypothetical protein	1.84	3.34	1.30
AT3G45780.1	nonphotosynthetic hypocotyl 1	1.18	0.43	1.17	AT4G02530.1	chloroplast thylakoid lumen protein	1.51	0.50	0.92
AT3G46080.1	zinc finger -like protein	0.82	2.43	1.07	AT4G02700.1	sulfate transporter protein	3.93	1.03	2.45
AT3G46820.1	putative protein	0.71	2.33	0.87	AT4G02920.1	expressed protein	1.00	0.44	0.88
AT3G46710.1	disease resistance protein (CC-NBS-LRR class), putative	1.09	2.01	0.91	AT4G03175.1	similar to putative protein kinase	2.24	1.41	2.52
AT3G46780.1	putative protein	1.61	0.38	0.76	AT4G03280.1	putative component of cytochrome B6-F complex	1.50	0.45	0.82
AT3G46970.1	starch phosphorylase, putative	2.27	1.40	2.98	AT4G03813.1	putative non-LTR retroelement reverse transcriptase	1.27	1.65	2.86
AT3G47110.1	kinase, putative	0.46	0.81	0.51	AT4G03980.1	putative protein	2.14	1.91	1.45
AT3G47340.1	glutamine-dependent asparagine synthetase	1.63	0.83	0.34	AT4G04040.1	putative phosphotransferase beta subunit	2.21	1.21	1.26
AT3G47420.1	putative protein	3.20	1.96	1.54	AT4G04090.1	putative NiFeU-like metallocluster assembly factor	1.91	1.49	2.03
AT3G47450.1	putative protein	0.74	0.41	0.68	AT4G04420.1	putative transposon protein	1.51	1.42	3.27
AT3G47480.1	putative osmium-binding protein	0.89	1.95	2.00	AT4G04490.1	putative receptor-like protein kinase	0.50	1.12	1.08
AT3G47540.1	glycosyl hydrolase family 19 (chitinase)	0.83	2.01	1.03	AT4G04540.1	putative receptor-like protein kinase	2.39	1.61	1.08
AT3G47580.1	leucine-rich repeat transmembrane protein	1.37	1.52	2.38	AT4G04545.1	similar to lumen protein retaining receptor, putative	2.24	1.99	1.40
AT3G47650.1	putative protein	1.13	0.40	0.83	AT4G04880.1	hypothetical protein	3.08	1.94	3.01
AT3G47680.1	myb family protein	3.72	1.38	2.59	AT4G04840.1	putative protein	1.34	1.51	2.50
AT3G47950.1	H ⁺ -transporting ATPase - like protein	0.77	1.38	2.23	AT4G05120.1	putative protein	0.82	0.75	0.48
AT3G48040.1	rac GTP-binding protein (Arac8)	1.08	1.01	4.46	AT4G05190.1	ovate-evolving complex protein 18, chloroplast precursor (OEC18)	1.54	0.48	0.88
AT3G48235.1	Ac-like transposase	1.90	1.75	2.51	AT4G05490.1	F-box protein family, AtFBL22	2.22	0.77	1.47
AT3G48290.1	similar to cytochrome P450-like protein	1.04	2.13	0.97	AT4G05525.1	putative	2.31	1.99	2.19
AT3G48340.1	similar to cysteine proteinase	1.86	1.34	2.28	AT4G05532.1	similar to see GB:AF077408	1.54	3.38	1.62
AT3G48420.1	Expressed protein	1.52	0.43	0.82	AT4G07550.1	putative transposon protein	0.82	0.83	0.44
AT3G48730.1	glutamate-L-semialdehyde aminotransferase	1.15	0.49	0.99	AT4G07580.1	see GB:AL022590	2.05	1.46	1.70
AT3G48840.1	EFM-containing protein	4.31	1.74	2.56	AT4G07675.1	hypothetical protein	2.42	0.99	1.94
AT3G48850.1	mitochondrial phosphate transporter	0.36	2.08	1.73	AT4G07820.1	putative pathogenesis-related protein	0.36	2.08	0.95
AT3G48940.1	resorcin -like protein	0.65	1.32	2.43	AT4G08040.1	KNAT1 homeobox-like protein	1.57	1.43	2.43
AT3G48980.1	putative protein	0.43	0.62	0.82	AT4G08264.1	transposase, putative	4.03	1.87	4.66
AT3G49120.1	peroxidase, putative	1.13	2.39	1.09	AT4G08990.1	putative MuDR-A-like transposon protein	1.19	2.02	1.75
AT3G49280.1	putative protein	0.49	0.38	0.85	AT4G09010.1	ascorbate peroxidase, putative	2.65	0.37	0.55
AT3G49390.1	hypothetical protein	1.01	1.03	2.58	AT4G09040.1	EFM-containing protein	0.84	0.35	0.38
AT3G49580.1	putative protein	2.80	1.91	2.55	AT4G09340.1	putative protein	1.26	2.08	1.19
AT3G49620.1	oxidoreductase (din11), putative	1.62	2.04	0.71	AT4G09650.1	H ⁺ -transporting ATP synthase-like protein	1.49	0.48	0.78
AT3G49830.1	oxidoreductase (din11), putative	1.01	2.36	2.06	AT4G10010.1	putative protein kinase	1.36	1.25	2.17
AT3G49780.1	putative protein	0.55	2.05	0.98	AT4G10120.1	sucrose-phosphate synthase - like protein	3.62	3.28	2.07
AT3G49970.1	putative protein	0.82	0.50	1.02	AT4G10340.1	light-harvesting chlorophyll a/b binding protein	1.68	0.38	0.78
AT3G50260.1	putative protein	0.87	3.33	0.85	AT4G10860.1	UDP-galactose 4-epimerase - like protein	0.98	2.13	1.14
AT3G50270.1	putative protein	1.14	0.45	0.63	AT4G11030.1	putative acyl-CoA synthetase	1.80	1.65	3.13
AT3G50440.1	photosystem II oxygen-evolving complex 33	1.69	0.34	0.64	AT4G11280.1	ACC synthase (AtACS-8)	0.92	4.34	1.55
AT3G50770.1	photosystem II oxygen-evolving complex 33	1.45	2.34	1.39	AT4G11920.1	cysteine proteinase	2.04	1.55	1.82
AT3G50820.1	(OEC33)	1.76	0.44	0.86	AT4G11990.1	CHP-rich zinc finger protein, putative	3.32	2.35	1.70
AT3G50900.1	expressed protein	0.57	2.06	0.75	AT4G16005.1	glutathione peroxidase, putative	1.11	2.14	1.30
AT3G50930.1	BCG1 protein-like protein	0.75	2.65	1.07	AT4G16550.1	osmotin precursor	0.87	4.35	1.08
AT3G51070.1	putative protein	2.13	2.68	1.36	AT4G12170.1	putative protein	2.73	1.21	0.55
AT3G51210.1	putative protein	1.80	1.22	2.64	AT4G12290.1	copper amine oxidase -like protein	1.35	2.57	1.10
AT3G51510.1	putative protein	1.19	0.50	0.83	AT4G12490.1	pEARL1 l-like protein	0.89	3.44	1.24
AT3G51700.1	putative protein	0.40	0.93	0.72	AT4G12910.1	PERLINE CARBOXYPEPTIDASE 1 PRECURSOR-like protein	1.28	2.02	1.24
AT3G51680.1	Ca ²⁺ /H ⁺ -exchanging protein-like	1.89	3.10	1.33	AT4G13000.1	putative protein	2.23	3.34	2.34
AT3G51880.1	putative serine/threonine protein kinase	2.55	1.46	2.16	AT4G13180.1	short-chain alcohol dehydrogenase like protein	0.68	2.62	1.01
AT3G52150.1	EFM-containing protein	1.27	0.38	0.94	AT4G13420.1	potassium transporter - like protein	2.07	2.14	2.86
AT3G52720.1	carbonic anhydrase (CAH1)	4.27	1.65	3.00	AT4G13450.1	myb family transcription factor	1.15	2.19	0.87
AT3G53040.1	late embryogenesis abundant protein - like	1.44	1.05	2.16	AT4G13700.1	putative protein	1.25	2.60	1.54
AT3G53150.1	glucosyltransferase - like protein	0.46	1.68	0.92	AT4G13920.1	disease resistance protein family (LRR)	1.39	2.27	1.13
AT3G53250.1	28 kDa ribonucleoprotein, chloroplast precursor (RNA-binding protein o29)	1.75	2.48	1.00	AT4G13970.1	hypothetical protein	0.33	0.53	0.80
AT3G53480.1	inorganic pyrophosphatase -like protein	0.79	0.45	0.85	AT4G14040.1	selenium-binding protein like	2.22	0.84	1.17
AT3G53880.1	photoinsensitive-responsive protein PAR-1b -like protein	1.61	2.35	2.26	AT4G14080.1	major latex protein (MLP)-related	1.98	2.01	1.75
AT3G54040.1	fructokinase - like protein	0.50	3.46	1.10	AT4G14070.1	AMP-binding protein	0.99	1.59	1.31
AT3G54090.1	fructokinase - like protein	0.78	0.39	0.91	AT4G14090.1	glycosyl hydrolase family 17 (anther-specific protein, AB)	1.17	1.89	3.11
AT3G54150.1	embryonic abundant protein -like	0.83	3.41	0.94	AT4G14390.1	serin precursor oxalate oxidase	0.23	6.33	1.54
AT3G54210.1	ribosomal protein L17 -like protein	1.28	0.38	0.76	AT4G14870.1	expressed protein	1.22	0.43	0.83
AT3G54420.1	glycosyl hydrolase family 19 (class IV chitinase)	0.81	2.04	0.87	AT4G14950.1	expressed protein	0.96	4.30	1.43
					AT4G15059.1	similar to putative carboxyl-terminal peptidase	2.27	2.80	1.33

GeneName	Description	24hr	48hr	72hr	GeneName	Description	24hr	48hr	72hr
AT4G15120.1	expressed protein	0.93	2.23	0.93	AT4G28560.1	leucine rich repeat protein family (fragment)	4.51	1.03	1.60
AT4G15210.1	glycosyl hydrolase family 14 (beta-amylase)	12.44	45.38	12.44	AT4G28860.1	photosystem II protein W - like	1.44	0.43	0.88
AT4G15350.1	cytochrome p450 family	0.89	2.00	0.84	AT4G29060.1	Expressed protein	1.18	0.41	0.83
AT4G15417.1	similar to RNA helicase, putative	0.83	2.13	0.86	AT4G29270.1	acid phosphatase-like protein	1.56	2.26	1.33
AT4G15540.1	hypothetical protein	2.80	1.43	1.72	AT4G29450.1	serine/threonine-specific receptor protein kinase-like protein	1.57	1.19	4.63
AT4G15870.1	terpene synthase/cyclase family	1.94	1.08	2.56	AT4G29800.1	cytidine deaminase 7	1.52	1.25	2.05
AT4G15970.1	hypothetical protein common family similar to S1 self-incompatibility protein, putative	0.93	0.84	2.38	AT4G29890.1	nucleotide pyrophosphatase - like protein	2.27	1.63	1.21
AT4G18195.1	glycosyl hydrolase family 17	1.87	1.47	2.12	AT4G29700.1	nucleotide pyrophosphatase -like protein	2.23	1.65	1.63
AT4G18260.1	Expressed protein	0.98	2.13	0.93	AT4G29780.1	expressed protein	0.82	2.33	0.88
AT4G18985.1	glycosyl hydrolase family 14 (beta-amylase)	1.02	0.43	0.81	AT4G30140.1	putative protein	0.48	2.05	0.93
AT4G17090.1	putative protein	1.52	0.33	0.45	AT4G30270.1	xyloglucan endotransglycosylase (meri5B)	1.53	3.63	1.92
AT4G17220.1	ethylene responsive element binding factor 1 (frameshift !)	1.12	2.18	1.12	AT4G30540.1	putative protein	1.35	2.08	0.98
AT4G17500.1	putative protein	0.82	3.47	1.08	AT4G30560.1	cyolic nucleotide-regulated ion channel, putative	2.47	1.87	1.15
AT4G17560.1	L118 protein	1.05	0.47	0.83	AT4G30870.1	Expressed protein	1.03	1.59	2.24
AT4G17600.1	calicoeurin B-like protein 1	1.16	0.50	0.82	AT4G30710.1	putative protein	0.82	0.46	0.80
AT4G17615.1	expressed protein	1.11	2.60	1.45	AT4G31210.1	DNA topoisomerase I, putative	0.49	0.59	0.59
AT4G17790.1	potassium channel protein KAT2	1.92	2.04	1.76	AT4G31230.1	putative protein	1.63	0.84	2.54
AT4G18290.1	glucanase oxidase - like protein	2.58	0.76	1.75	AT4G31350.1	hypothetical protein	1.20	1.07	2.80
AT4G18360.1	protease Hhok, chloroplast precursor	0.93	2.18	1.08	AT4G31740.1	putative protein	2.13	1.56	1.81
AT4G18370.1	teosinte branched - like protein	1.20	0.45	0.89	AT4G32340.1	putative protein	0.79	0.45	0.59
AT4G18390.1	membrane-bound small GTP-binding - like protein	0.53	0.30	0.90	AT4G32870.1	putative protein	1.98	1.92	2.13
AT4G18430.1	protein ch-42 precursor, chloroplast	0.48	2.25	1.30	AT4G32440.1	putative protein	1.72	2.09	2.43
AT4G18480.1	putative protein	1.37	0.49	0.90	AT4G32480.1	putative protein	1.43	2.22	1.41
AT4G18680.1	hypothetical protein	2.07	2.82	1.19	AT4G32510.1	putative protein	2.45	3.72	1.21
AT4G18740.1	hypothetical protein	2.73	0.35	0.91	AT4G32880.1	homeobox gene ATH1	1.12	0.44	0.75
AT4G18950.1	protein kinase - like protein	1.25	2.69	1.30	AT4G33030.1	sulfolipid biosynthesis protein SGD1	7.02	3.17	2.13
AT4G19370.1	Expressed protein	1.03	1.02	2.68	AT4G33720.1	pathogenesis-related protein 1 precursor, 18.3K	0.39	2.64	1.94
AT4G19000.1	putative protein	2.72	1.31	2.13	AT4G33770.1	putative protein	2.18	1.82	1.57
AT4G19170.1	8-cis-epoxycarotenoid dioxygenase (neoxanthin cleavage enzyme)(NC1)(NCEP1), putative	1.05	0.36	0.87	AT4G34181.1	similar to glucosyltransferase -like protein	0.67	3.40	0.75
AT4G19350.1	disease resistance protein (TIR-NBS-LRR class), putative	1.38	0.44	0.55	AT4G34185.2	glucosyltransferase -like protein	1.00	2.48	1.20
AT4G19810.1	glycosyl hydrolase family 18	0.78	16.24	1.43	AT4G34180.1	putative protein	0.88	0.35	0.71
AT4G20000.1	hypothetical protein	0.59	4.24	0.94	AT4G34200.1	Phosphoglycerate dehydrogenase - like protein	1.79	2.68	1.52
AT4G20110.1	spot 8 protein and vacuolar sorting receptor homolog, putative	0.99	2.04	0.94	AT4G34420.1	hypothetical protein	1.31	2.70	3.02
AT4G20360.1	elongation factor Tu, chloroplast precursor (EF-Tu)	1.15	0.45	0.82	AT4G34560.1	putative protein	4.40	2.48	2.30
AT4G20810.1	putative protein	2.18	1.04	1.54	AT4G34820.1	putative ribosomal protein S16	1.25	0.44	0.95
AT4G20930.1	FAD-linked oxidoreductase family	0.80	2.82	0.89	AT4G34850.1	farnesyl-diphosphate farnesyltransferase (squalene synthase 2)(SGS2)	3.80	1.14	2.09
AT4G20860.1	FAD-linked oxidoreductase family	0.81	3.13	0.74	AT4G34730.1	putative protein	0.98	0.44	0.81
AT4G21020.1	putative protein	2.52	1.58	3.19	AT4G35190.1	putative protein	1.61	2.24	1.40
AT4G21130.1	G-protein beta family	2.55	2.09	1.23	AT4G35250.1	putative protein	1.88	0.41	0.94
AT4G21280.1	oxygen-evolving complex protein 16, chloroplast precursor (OEC16)	1.55	0.39	0.77	AT4G35290.1	putative protein	3.13	2.63	2.20
AT4G21380.1	receptor-like serine/threonine protein kinase AKR3	0.66	1.11	2.41	AT4G35360.1	cysteine protease MCP1	1.27	2.31	1.78
AT4G21470.1	putative protein	2.44	2.44	1.63	AT4G35480.1	KING-H2 finger protein BHA3b	0.86	2.07	0.93
AT4G21490.1	putative protein	0.93	0.83	2.25	AT4G35520.1	putative protein	1.83	1.83	2.29
AT4G21650.1	putative protein	0.93	0.83	2.25	AT4G35520.1	DNA-directed RNA polymerase (EC 2.7.7.6) II largest chain	0.49	0.73	0.70
AT4G21650.1	subtilisin proteinase - like	1.07	1.06	2.09	AT4G35800.1	DnaJ-like protein	1.03	2.04	0.98
AT4G22070.1	WRKY family transcription factor	0.82	2.03	1.27	AT4G38040.1	putative auxin-induced protein	0.44	0.55	1.02
AT4G22200.1	potassium channel protein AKT3	1.25	0.49	0.88	AT4G38110.1	ferulate-5-hydroxylase (FAH1)	0.98	2.21	1.05
AT4G22590.1	putative protein	0.85	2.38	1.11	AT4G38220.1	putative protein	1.23	2.36	3.05
AT4G22590.1	trehalose-6-phosphate phosphatase - like protein	1.11	2.35	0.88	AT4G38350.1	purple acid phosphatase like protein	1.42	1.10	2.07
AT4G22610.1	putative protein	2.45	2.29	1.28	AT4G38360.1	glycosyl hydrolase family 35 (beta-galactosidase)	1.42	1.10	2.07
AT4G22750.1	similar to putative C-4 sterol methyl oxidase	0.59	0.44	0.44	AT4G38430.1	peroxidase, putative	1.20	2.38	0.79
AT4G23870.1	major latex protein (MLP)-related	3.20	1.19	1.27	AT4G38490.1	expressed protein	1.61	1.47	4.48
AT4G23880.1	major latex protein (MLP)-related	2.61	1.08	1.01	AT4G38500.1	putative protein	0.98	2.09	0.98
AT4G23700.1	putative Na/H-exchanging protein	1.04	8.25	1.26	AT4G38655.1	Expressed protein	1.30	2.81	1.08
AT4G23780.1	putative protein	2.41	1.83	1.21	AT4G38700.1	globulin-like protein	0.57	0.41	0.43
AT4G23810.1	WRKY family transcription factor	0.46	3.30	0.93	AT4G38850.1	putative protein	2.10	3.33	2.59
AT4G23820.1	polygalacturonase, putative	0.89	0.82	0.82	AT4G38890.1	heat shock transcription factor HSF4	0.80	2.12	0.90
AT4G24000.1	putative protein	1.63	3.87	1.01	AT4G38700.1	calytractin-like protein	0.81	2.48	0.72
AT4G24010.1	putative protein	1.48	2.67	2.28	AT4G38760.1	pestatin, putative	2.54	0.85	1.27
AT4G24340.1	putative protein	1.46	2.29	0.56	AT4G38730.1	expressed protein	0.73	2.38	0.73
AT4G24380.1	putative protein	0.92	2.38	0.94	AT4G38770.1	cytochrome p450 family	0.81	3.71	1.26
AT4G24450.1	putative protein	1.28	2.09	1.80	AT4G38750.1	peroxidase, putative	0.80	3.14	0.95
AT4G24710.1	putative protein binding protein	0.40	0.91	0.53	AT4G38750.1	peroxidase, putative	0.92	2.67	0.92
AT4G24770.1	81 kDa ribonucleoprotein, chloroplast precursor (RNA-binding protein cp81)	1.40	0.44	0.93	AT4G37700.1	hypothetical protein	2.04	1.41	1.88
AT4G24780.1	polysaccharide lyase family 1 (pectate lyase)	1.53	1.24	2.00	AT4G37830.1	glycine hydroxymethyltransferase like protein	1.89	0.48	0.92
AT4G24890.1	putative protein	1.06	1.89	2.08	AT4G37890.1	cinnamyl-alcohol dehydrogenase ELI8-2	0.85	2.27	1.67
AT4G25050.1	seryl carrier - like protein	1.10	0.38	0.75	AT4G38160.1	putative protein	0.93	0.43	0.93
AT4G25080.1	magnesium-protoporphyrin IX	1.46	0.45	0.95	AT4G38320.1	putative protein	2.87	2.20	1.80
AT4G25140.1	methyltransferase - like protein	0.49	0.51	0.69	AT4G38740.1	peptidylprolyl isomerase ROC1	2.00	2.01	1.70
AT4G25200.1	Arabidopsis mitochondrion-localized small heat shock protein (ATHSP23.8-mito)	1.30	1.41	2.19	AT4G38830.1	receptor-like protein kinase - like protein	1.09	2.12	1.92
AT4G25310.1	2-oxoglutarate-dependent dioxygenase	0.37	0.71	0.65	AT4G38870.1	putative fructose-bisphosphate aldolase	1.54	0.47	0.85
AT4G25460.1	family	1.05	0.84	2.87	AT4G38940.1	putative protein	1.10	0.50	0.77
AT4G25480.1	hypothetical protein	3.12	0.86	1.53	AT4G39210.1	glucose-1-phosphate adenylyltransferase (APL3)	1.19	2.31	1.92
AT4G25780.1	DRE binding protein (DREB1A)	0.42	1.97	1.81	AT4G39320.1	expressed protein	1.72	0.89	2.34
AT4G25810.1	putative pathogenesis-related protein	0.84	2.26	1.11	AT4G39870.1	putative protein	0.69	4.72	0.92
AT4G25810.1	xyloglucan endotransglycosylase (XTR-8)	0.84	2.26	1.11	AT4G39870.1	putative protein	0.69	4.72	0.92
AT4G26200.1	1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase	0.77	2.09	1.31	AT4G39970.1	putative protein	1.18	0.48	0.93
AT4G26260.1	-like protein	0.53	0.46	0.66	AT4G40090.1	arabinogalactan-protein (AGP3)	2.72	1.54	2.25
AT4G26370.1	putative protein	1.52	0.41	1.12	AT5G01220.1	putative protein	8.70	6.25	3.13
AT4G26520.1	fructose-bisphosphate aldolase	2.38	0.54	1.00	AT5G01250.1	putative protein	0.91	2.01	0.92
AT4G26520.1	fructose-bisphosphate aldolase - like protein	3.00	0.39	4.84	AT5G01800.1	ferritin 1 precursor	3.03	1.35	0.99
AT4G26790.1	protein	1.30	1.00	5.63	AT5G02120.1	one helix protein (OHP)	1.68	0.40	0.92
AT4G26820.1	putative AFG protein	1.27	0.47	0.69	AT5G02160.1	putative protein	1.83	0.48	1.13
AT4G27280.1	putative homeodomain protein	0.78	2.67	1.07	AT5G02190.1	putative protein	1.14	1.52	2.18
AT4G27920.1	putative protein	0.47	0.61	0.64	AT5G02870.1	kinesin-related protein	2.71	1.05	1.99
AT4G28040.1	Medicago nodulin N21-like protein	3.19	3.09	2.49	AT5G02780.1	In2-1 protein, putative	0.77	4.04	1.25
AT4G28080.1	putative protein	1.86	0.32	0.81	AT5G02880.1	putative protein	1.28	1.02	2.32
AT4G28250.1	beta-expansin pollen allergen protein	1.79	1.86	2.01	AT5G02820.1	F-box protein family, ATFLB26	0.58	0.46	0.79

ゲノム生物学的手法による植物のリン酸応答機構に関する研究

GeneName	Description	24hr	48hr	72hr	GeneName	Description	24hr	48hr	72hr
ATG003860.1	putative protein	2.24	0.90	1.26	ATG022930.1	putative protein	1.28	0.84	2.23
ATG003780.1	putative protein	1.92	1.29	2.34	ATG022960.1	putative protein	1.51	1.93	2.16
ATG004140.1	ferredoxin-dependent glutamate synthase	1.48	0.41	0.78	ATG022980.1	C2H2-type zinc finger protein-like	2.24	1.25	1.81
ATG004340.1	putative c2h2 zinc finger transcription factor	1.16	2.28	1.20	ATG023050.1	putative protein	1.49	0.41	0.86
ATG004390.1	zinc finger transcription factor-like protein	3.02	1.22	1.19	ATG023120.1	photosystem II stability/assembly factor HCF136	1.44	0.43	0.74
ATG004620.1	cytochrome P450 monooxygenase, putative	2.00	2.74	1.40	ATG023220.1	putative protein	2.44	1.48	1.66
ATG004820.1	putative protein	2.80	1.40	2.50	ATG023870.1	serine palmitoyltransferase	0.70	0.92	0.50
ATG004850.1	nicotianamine synthase, putative	0.62	0.31	0.61	ATG023930.1	FGO2 homolog	0.82	2.03	0.70
ATG005120.1	putative protein	0.79	0.40	1.14	ATG024030.1	glycosyl hydrolase family 10 (acidic endonucleinase)	0.53	3.08	0.79
ATG005040.1	peroxidase, putative	2.63	12.74	1.22	ATG024120.1	sigma-like factor (emb CMA77213.1)	1.82	1.24	2.52
ATG005410.1	DRE binding protein (DREB2A)	0.79	2.18	1.12	ATG024140.1	squalene monooxygenase 2 (squalene epoxidase 2) (SOP2)(SE2)	2.81	1.12	2.84
ATG005680.1	omeca-3 fatty acid desaturase, chloroplast precursor (FAD3)	0.80	0.38	0.75	ATG024230.1	putative protein	1.61	2.58	1.63
ATG005720.1	BRM-containing protein	0.40	0.40	0.54	ATG024314.1	Expressed protein	1.19	0.45	0.04
ATG005890.1	succinyl-CoA transferase-like protein	1.11	2.17	1.10	ATG024490.1	putative protein	1.93	0.39	0.92
ATG006220.1	harpin-induced protein-like	1.02	2.20	1.10	ATG024590.1	2-oxoglutarate-dependent dioxygenase family	1.12	2.94	1.05
ATG006280.1	putative protein	1.41	0.75	2.80	ATG024640.1	putative protein	1.03	1.35	2.07
ATG006770.1	putative protein	0.50	2.48	1.04	ATG024770.1	vegetative storage protein Vap2	2.29	2.88	0.51
ATG006820.1	thioredoxin-like	1.35	0.45	0.85	ATG024780.1	vegetative storage protein Vap1	2.48	1.75	1.20
ATG006780.1	peroxidase, putative	1.00	2.51	0.63	ATG024800.1	glutamic acid-rich protein	0.97	1.20	1.94
ATG006740.1	leucine-like protein kinase	0.47	2.00	0.99	ATG024960.1	cytochrome P450-like protein	2.24	1.40	2.46
ATG006780.1	late embryogenesis abundant protein LEA like polygalacturonase inhibiting protein (PGIP)	2.47	1.06	1.08	ATG025430.1	snion exchanger-like protein	1.59	3.07	1.54
ATG006860.1	polygalacturonase inhibiting protein (PGIP)	1.40	2.49	2.71	ATG025460.1	putative protein	1.49	0.72	2.71
ATG006870.1	polygalacturonase inhibiting protein (PGIP2)	2.84	1.09	1.50	ATG025610.1	dehydration-induced protein ED22	1.82	0.04	2.17
ATG007030.1	nucleoid DNA-binding-like protein	1.39	1.51	2.03	ATG025930.1	receptor-like protein kinase - like	0.55	2.89	0.85
ATG007420.1	pectinesterase family	2.63	1.14	2.76	ATG025980.1	glycosyl hydrolase family 1	2.12	1.68	0.68
ATG007440.1	glutamine dehydrogenase 2	1.28	2.28	1.48	ATG026010.1	putative protein	0.74	1.08	6.47
ATG007450.1	putative protein	1.00	1.04	0.17	ATG026200.1	putative protein	2.84	1.71	0.92
ATG007620.1	putative protein	0.81	0.76	0.42	ATG026240.1	hexose transporter - like protein	0.61	2.68	1.16
ATG007680.1	SNAP25 - like protein	1.92	0.97	2.50	ATG026720.1	putative protein	1.67	1.64	2.01
ATG008020.1	silicoesterase-like protein	1.06	1.67	2.12	ATG027100.1	ion channel - like protein	2.89	2.14	1.60
ATG008145.1	GCIP family transcription factor	2.80	1.95	2.81	ATG027140.1	3AR DNA-binding protein - like	1.11	2.28	1.11
ATG008240.1	putative protein	1.14	2.18	1.55	ATG027420.1	BING-H2 zinc finger protein-like	0.49	4.64	1.05
ATG008280.1	hydroxymethylbilane synthase	1.09	0.44	0.04	ATG027550.1	kinesin-related protein	1.36	1.23	2.07
ATG008440.1	flavonol synthase 1 (FLS1)	1.49	1.88	2.38	ATG027790.1	protein kinase - like protein	2.47	2.42	4.19
ATG008780.1	Expressed protein	1.00	2.20	1.04	ATG027800.1	putative protein	1.66	1.45	2.12
ATG009220.1	amino acid transport protein AAP2	1.91	1.05	2.50	ATG028190.1	putative protein	2.88	0.76	2.82
ATG009470.1	mitochondrial carrier protein family	1.48	2.06	1.78	ATG028410.1	putative protein	1.61	1.68	2.06
ATG009490.1	expressed protein	0.87	2.44	1.18	ATG028750.1	Tha1 protein - like	1.02	0.44	0.73
ATG009470.1	putative protein	1.25	2.28	1.82	ATG028820.1	similar to putative helinase	2.12	1.86	1.26
ATG009470.1	microbody NAD-dependent malate dehydrogenase	2.23	0.41	1.10	ATG028940.1	homology to many predicted putative replication proteins eg EMBL2AC007882	2.07	1.18	1.47
ATG009780.1	glycosyl hydrolase family 3	0.40	0.72	0.60	ATG028950.1	putative protein	0.54	2.15	1.10
ATG010040.1	hypothetical protein	0.78	1.05	0.49	ATG029010.1	putative protein	2.69	2.94	4.77
ATG010150.1	putative protein	0.87	0.39	0.42	ATG029140.1	putative retroelement pol polyprotein	1.84	1.77	3.48
ATG010290.1	annexin - like protein	2.13	2.00	1.15	ATG029182.1	autolysin-like transposase, putative	1.89	3.34	1.47
ATG010680.1	putative protein	1.08	2.08	1.06	ATG029280.1	putative reverse transcriptase	0.70	0.47	0.87
ATG010740.1	protein phosphatase 2C - like protein	1.50	2.07	1.97	ATG029175.1	transposon related protein	2.79	2.67	4.21
ATG011380.1	putative protein	1.19	2.21	1.17	ATG029255.1	autolysin-like transposase, putative	1.49	1.98	2.74
ATG011420.1	putative protein	1.36	0.57	2.84	ATG029360.1	putative protein	0.94	1.01	0.45
ATG011650.1	lysophospholipase - like protein	0.89	2.04	0.95	ATG029394.1	similar to putative transposon protein	0.87	2.04	0.89
ATG012020.1	heat shock protein 17.0-II	0.50	0.32	0.51	ATG029395.1	protein, putative	2.01	1.17	2.20
ATG012080.1	putative protein	3.76	2.00	1.47	ATG034520.1	replication protein A1 (SW:BTAF1_KINLNA)	0.80	1.21	2.32
ATG012180.1	osulium-dependent protein kinase	2.23	1.06	2.25	ATG034945.1	putative transposon protein	2.75	1.63	1.89
ATG012860.1	2-oxoglutarate/maleate translocator precursor -like protein	0.91	0.49	0.73	ATG035170.1	adenylate kinase - like protein	1.61	0.50	1.02
ATG013080.1	WRKY family transcription factor	0.81	4.20	0.89	ATG035205.1	similar to putative non-LTR	2.57	1.04	2.30
ATG013180.1	NAM-like protein	0.81	2.11	1.22	ATG035230.1	retroelement reverse transcriptase	2.87	2.39	2.24
ATG013280.1	putative protein	0.85	2.12	0.93	ATG035560.1	transposon related protein	1.70	2.49	2.89
ATG013510.1	ribosomal protein L10-like	1.18	0.44	0.95	ATG035560.1	putative protein	1.70	2.49	2.89
ATG013680.1	photoreceptor-interacting protein-like: non-phototropic hypocotyl-like protein	0.47	0.66	0.59	ATG035890.1	slutamate-oxaloacetate transaminase (EC 6.3.1.2) precursor, chloroplast (clone leahd45c11) (pir J219800)	1.94	0.39	0.77
ATG013730.1	sigma-like factor (gh)AAC97954.1)	1.78	0.35	0.93	ATG035890.1	similar to Em/Spa-like transposon	1.94	0.39	0.77
ATG013750.1	transporter-like protein	0.81	0.29	0.56	ATG035895.1	protein	2.92	1.94	3.12
ATG013820.1	H-protein promoter binding factor-1 (ch)AAC2482.1)	1.18	2.98	1.48	ATG035940.1	putative protein	2.89	2.18	0.94
ATG013820.1	chalcone synthase (narinsenin-chalcone synthase)	2.20	2.53	4.28	ATG036790.1	p-nitrophenylphosphatase-like protein	1.74	0.40	0.99
ATG014320.1	ribosomal protein precursor - like	1.45	0.49	0.94	ATG036805.1	similar to non-LTR reverse transcriptase, putative	0.48	0.68	0.68
ATG014410.1	putative protein	1.06	0.04	2.22	ATG037125.1	MuDr transposable element - like protein	0.58	0.52	0.28
ATG014790.1	citannoyl CoA reductase - like protein	1.00	2.08	0.88	ATG037430.1	contains similarity to unknown protein (pir C71432)	0.61	0.49	0.81
ATG014790.1	putative protein	0.35	2.58	0.80	ATG037440.1	contains similarity to DnaJ protein	0.75	0.40	0.51
ATG014740.1	CARDONIC AMHYDROLYASE 2	2.20	0.29	0.72	ATG037490.1	putative protein	1.42	2.88	1.29
ATG014910.1	putative protein	1.21	0.49	0.90	ATG037540.1	quinoxaline oxidoreductase - like protein	1.10	1.10	1.20
ATG015180.1	peroxidase, putative	1.95	2.20	1.84	ATG037970.1	methyltransferase-related	2.52	1.90	1.12
ATG016870.1	quinone oxidoreductase - like protein	1.07	2.14	1.43	ATG037990.1	methyltransferase-related	2.20	2.26	1.94
ATG018890.1	glutaredoxin - like protein	0.97	0.20	0.92	ATG038020.1	S-adenosyl-L-methionine:carboxyl methyltransferase family	1.99	2.11	1.09
ATG018890.1	putative protein	1.70	0.36	1.05	ATG038200.1	putative protein	1.11	2.74	4.31
ATG019020.1	chaperonin 60 alpha chain - like protein	0.41	0.47	0.56	ATG038340.1	disease resistance protein (TIR-NBS-LRR class), putative	2.04	1.20	1.80
ATG019840.1	sugar transporter - like protein	0.92	0.91	0.44	ATG038365.1	similar to putative Toll-like non-LTR retroelement protein	2.00	2.40	2.86
ATG019110.1	dermal glycoprotein - like	2.03	1.15	0.51	ATG038365.1	ribulose biphosphate carboxylase small chain 2b precursor (RuBisCO small subunit 2b) (sp P10790)	2.89	0.52	0.94
ATG019220.1	Glucose-1-phosphate adenylyltransferase (Apl1/Adg2)	2.51	0.98	1.40	ATG038420.1	ribulose biphosphate carboxylase small chain 2b precursor (RuBisCO small subunit 2b) (sp P10797)	1.94	0.39	0.70
ATG019230.1	putative protein	0.98	2.45	1.15	ATG038430.1	ribulose biphosphate carboxylase small chain 1b precursor (RuBisCO small subunit 1b) (sp P10798)	1.99	0.16	0.52
ATG019800.1	putative protein	1.17	2.79	1.98	ATG038430.1	small subunit 1b) (sp P10798)	1.99	0.16	0.52
ATG019890.1	peroxidase, putative	1.75	2.09	1.17	ATG038710.1	precursor - like protein	1.23	2.14	0.99
ATG019890.1	peroxidase, putative	0.83	4.76	0.84	ATG038760.1	pollen coat - like protein	0.45	0.89	1.10
ATG020150.1	id4-like protein	2.14	4.49	2.09	ATG038900.1	frnE protein - like	0.52	4.07	0.80
ATG020400.1	2-oxoglutarate-dependent dioxygenase family	1.00	2.71	1.40	ATG039100.1	serpin - like protein GLP6	0.29	1.73	0.81
ATG020420.1	putative protein	1.59	2.05	1.12	ATG039160.1	serpin - like protein	0.22	2.35	0.75
ATG020620.1	serpin-like protein	2.80	0.20	2.05	ATG039160.1	serpin-like protein	0.17	4.21	0.79
ATG020740.1	ripening-related protein - like	0.81	0.25	2.36	ATG039230.1	expansin, putative	0.49	0.67	0.88
ATG020790.1	putative protein	2.88	4.19	1.91	ATG039500.1	peroxidase, putative	0.89	3.77	1.07
ATG020860.1	aldehyde oxidase AAO1	0.72	2.03	0.99	ATG039500.1	peroxidase, putative	0.89	3.77	1.07
ATG021090.1	PINHEAD - like protein	1.09	1.44	2.08	ATG039810.1	NAM / CUC2 - like protein	0.69	2.59	0.78
ATG021105.1	Expressed protein	0.77	2.11	1.51	ATG039830.1	SNARE protein ATWD011	0.47	0.68	0.77
ATG021120.1	ethylene-insensitive2-like2 (EIL2)	2.20	1.14	2.43	ATG039860.1	Dof zinc finger protein	0.59	1.00	0.41
ATG022250.1	OCRA-associated factor-like protein	0.71	2.09	0.96	ATG039870.1	calcium-binding protein - like	0.85	2.48	1.29
ATG022260.1	Nitritease 4 (sp P46011)	0.82	2.21	1.28	ATG039920.1	ATG2 - like protein	2.90	0.65	3.15
ATG022490.1	rac GTPase solivastins protein	2.38	0.93	0.97	ATG039910.1	polysaccharuronase, putative	2.49	2.95	1.39
ATG022500.1	male sterility 2-like protein	1.05	1.69	2.10	ATG039970.1	putative protein	2.22	1.14	0.40
ATG022500.1	expressed protein	1.10	0.45	2.13	ATG040000.1	putative protein	0.34	1.00	0.40
ATG022860.1	prolylcarboxypeptidase-like protein	1.38	1.60	2.80	ATG040080.1	disease resistance protein (TIR-NBS class), putative	2.88	1.22	1.07
ATG022860.1	prolylcarboxypeptidase-like protein	1.38	1.60	2.80	ATG040270.1	putative protein	0.39	0.95	1.05
ATG040950.1	myb family transcription factor	0.89	0.80	2.20	ATG040950.1	myb family transcription factor	0.89	0.80	2.20
ATG040980.1	MYB - like protein	2.15	2.70	1.54	ATG040980.1	MYB - like protein	2.15	2.70	1.54
ATG040980.1	GHP-rich zinc finger protein, putative	0.23	2.84	0.49	ATG040980.1	GHP-rich zinc finger protein, putative	0.23	2.84	0.49

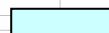
GeneName	Description	24hr	48hr	72hr	GeneName	Description	24hr	48hr	72hr
AT5G40950.1	50S ribosomal protein L27	1.27	0.40	0.80	AT5G54800.1	50S ribosomal protein L24, chloroplast precursor	1.29	0.40	0.75
AT5G40990.1	GDSL-motif lipase/hydrolase-like protein similar to putative non-LTR retroelement reverse transcriptase	0.94	1.53	0.55	AT5G54770.1	thiazole biosynthetic enzyme precursor (ABA5) (sp Q98814)	2.04	0.50	1.12
AT5G41505.1	putative protein	0.58	0.46	0.80	AT5G54840.1	SGP1 monomeric G-protein (emb CA854517.1)	0.88	2.28	1.03
AT5G41910.1	putative protein	3.01	1.52	3.21	AT5G55220.1	trigger factor-like protein	1.14	0.34	0.90
AT5G42050.1	putative protein	1.05	2.19	1.30	AT5G55880.1	putative protein	0.91	0.95	2.02
AT5G42170.1	GDSL-motif lipase/hydrolase-like protein	1.10	1.21	3.37	AT5G55970.1	putative protein	0.68	2.04	1.22
AT5G42580.1	cytochrome p450, putative	2.94	1.56	1.53	AT5G56325.1	similar to F-box protein	1.35	1.10	3.14
AT5G42590.1	cytochrome p450, putative	2.17	1.85	2.02	AT5G56330.1	putative protein	0.70	0.38	0.90
AT5G42800.1	pentacyclic triterpene synthase (04C11) (ATP1N1), putative	5.08	1.88	3.17	AT5G56630.1	pyrophosphate-dependent phosphofructo-1-kinase-like protein	1.59	2.01	1.51
AT5G42800.1	dihydroflavonol 4-reductase	1.50	1.21	2.46	AT5G57220.1	cytochrome p450 family	0.28	5.61	0.66
AT5G42890.1	N-hydroxychannoyl benzoyltransferase-like protein	0.41	1.52	0.80	AT5G57580.1	xyloglucan endotransglycosylase (TCH4)	0.90	2.72	1.08
AT5G43150.1	unknown protein	1.33	2.08	2.09	AT5G58250.1	similar to unknown protein (sp P72777)	1.06	0.42	0.81
AT5G43340.1	inorganic phosphate transporter (dbj BA434390.1)	0.97	0.84	2.27	AT5G58350.1	MAP kinase	1.00	2.28	1.02
AT5G43370.1	inorganic phosphate transporter (dbj BA424282.1)	1.05	2.40	2.02	AT5G58780.1	dehydrodicholyl diphosphate synthase (DEDOL-PP synthase), putative	2.48	1.07	1.71
AT5G43410.1	Nicotiana EREBP-3 like	0.41	0.62	0.69	AT5G58890.1	putative protein	2.42	0.84	1.49
AT5G43520.1	CHP-rich zinc finger protein, putative	0.47	2.42	0.88	AT5G59110.1	putative protein	0.71	0.50	0.64
AT5G43580.1	unknown protein	0.87	3.76	0.60	AT5G59310.1	nonspecific lipid-transfer protein precursor - like	0.99	0.89	5.54
AT5G43890.1	steroid sulfotransferase-like	2.33	1.28	1.53	AT5G59890.1	serine/threonine-specific protein kinase - like	0.38	1.01	0.82
AT5G44380.1	FAD-linked oxidoreductase family	0.72	2.65	0.99	AT5G59820.1	zinc finger protein Zat12	0.81	2.03	0.87
AT5G44480.1	putative protein	0.81	2.45	1.94	AT5G60530.1	late embryonic abundant protein - like	1.10	2.71	1.66
AT5G44680.1	putative protein	1.08	0.38	1.13	AT5G61180.1	anthocyanin 5-aromatic acyltransferase - like protein	0.41	1.41	0.45
AT5G44940.1	F-box protein	0.87	0.74	0.46	AT5G61510.1	quinone oxidoreductase - like protein	1.59	2.18	1.71
AT5G45090.1	disease resistance protein (TIR class), putative	0.56	2.20	1.08	AT5G61680.1	structural protein - like	1.42	1.67	2.18
AT5G45210.1	disease resistance protein (TIR-NBS-LRR class), putative	4.90	1.84	2.03	AT5G61820.1	putative protein	1.05	2.45	0.94
AT5G45240.1	disease resistance protein (TIR-NBS-LRR class), putative	3.04	2.15	1.78	AT5G62050.1	OXAL protein (OXALp)	0.55	0.50	0.61
AT5G45340.1	cytochrome p450 family	1.06	2.23	1.20	AT5G62720.1	putative protein	1.13	0.48	1.02
AT5G45680.1	FKBP-type peptidyl-prolyl cis-trans isomerase	1.29	0.44	0.87	AT5G62840.1	putative protein	0.94	0.48	0.94
AT5G45720.1	putative protein	1.37	0.98	2.03	AT5G62970.1	F-box protein	2.02	0.80	1.84
AT5G45930.1	magnesium chelatase subunit of protochlorophyllide reductase	1.40	0.41	1.02	AT5G63130.1	unknown protein	2.07	4.35	1.47
AT5G45950.1	GDSL-motif lipase/hydrolase-like protein	1.19	1.14	2.22	AT5G63310.1	nucleotide diphosphate kinase 1a (emb CA858230.1)	1.34	0.48	0.95
AT5G45970.1	Rac-like GTP-binding protein (ARAC2)	0.92	2.42	0.93	AT5G63430.1	putative protein	0.87	0.46	0.91
AT5G46040.1	peptide transporter	1.45	1.53	2.19	AT5G63530.1	flavonol synthase	1.64	2.13	1.28
AT5G46110.1	phosphate/tri- or hexa-phosphate translocator precursor (gb AAC83815.1)	1.15	0.98	0.58	AT5G63600.1	flavonol synthase family	0.98	2.55	1.01
AT5G46220.1	putative protein	2.04	1.01	1.00	AT5G63680.1	pyruvate kinase	1.33	2.07	1.38
AT5G47180.1	putative protein	1.38	2.13	1.17	AT5G63780.1	putative protein	0.81	3.30	1.16
AT5G47230.1	ethylene responsive element binding factor 5 (ATERF5)	0.76	2.48	1.23	AT5G63900.1	putative protein	0.83	0.49	0.67
AT5G47350.1	palmitoyl-protein thioesterase precursor-like	2.44	1.05	2.07	AT5G64000.1	3(2),5-bisphosphate nucleotidase (emb CA805889.1)	1.51	7.33	4.11
AT5G47670.1	putative protein	0.46	0.88	0.75	AT5G64040.1	photosystem I reaction center subunit FSI-N precursor (FSI-N)	1.72	0.38	0.88
AT5G47740.1	unknown protein	1.21	2.19	1.56	AT5G64100.1	peroxidase, putative	0.43	1.30	1.10
AT5G47950.1	acyltransferase family	2.09	1.22	1.48	AT5G64110.1	peroxidase, putative	0.46	2.06	1.20
AT5G47990.1	cytochrome p450 family	1.80	2.01	1.72	AT5G64120.1	peroxidase, putative	0.58	4.89	1.88
AT5G48010.1	pentacyclic triterpene synthase (04C11) (ATP1N1), putative	1.87	2.18	1.21	AT5G64250.1	2-nitropropane dioxygenase-like protein	0.90	2.33	0.88
AT5G48130.1	putative protein	1.64	3.23	1.51	AT5G64770.1	unknown protein	1.01	0.73	3.25
AT5G48470.1	expressed protein	0.82	0.50	0.99	AT5G65010.1	asparagine synthetase (gb AAC72837.1)	1.22	0.39	0.47
AT5G48770.1	disease resistance protein (TIR-NBS-LRR class), putative	1.97	1.34	2.04	AT5G65080.1	MADS-box protein	2.09	0.98	1.15
AT5G48930.1	myb family transcription factor	1.09	2.10	2.46	AT5G65220.1	50S ribosomal protein L23	1.20	0.37	0.85
AT5G49480.1	NaCl-inducible Ca2+-binding protein-like: calmodulin-like	0.47	1.91	0.63	AT5G65300.1	expressed protein	0.89	2.16	1.03
AT5G49885.1	similar to copia-like retroelement pol	0.77	2.95	1.02	AT5G65770.1	nuclear matrix constituent protein 1 (NMCP1)-like	1.83	1.23	2.21
AT5G49790.1	polyprotein	1.59	0.28	0.95	AT5G66170.1	senescence-associated protein	1.78	2.19	1.27
AT5G49840.1	ATP-dependent Clp protease ATP-binding subunit ClpX, putative	0.80	0.49	0.82	AT5G66190.1	ferredoxin-NADP+ reductase	1.53	0.46	0.72
AT5G50040.1	putative protein	2.73	2.53	1.59	AT5G66330.1	leucine rich repeat protein family	0.69	0.38	0.82
AT5G50200.1	putative protein	0.69	2.60	1.12	AT5G66470.1	GTP-binding protein-like	0.83	0.39	0.75
AT5G50680.1	ubiquitin activating enzyme	0.47	0.59	0.79	AT5G66540.1	expressed protein	0.45	0.54	0.78
AT5G50770.1	putative protein	1.11	0.63	2.30	AT5G66570.1	photosystem II oxygen-evolving complex 33 (OEC33)	1.61	0.44	0.75
AT5G51010.1	expressed protein	1.81	0.49	0.71	AT5G66890.1	disease resistance protein (NBS-LRR class), putative	3.13	2.97	1.22
AT5G51100.1	iron superoxide dismutase, putative	0.87	0.40	0.85	AT5G67080.1	protein kinase-like protein	2.44	4.80	3.18
AT5G51110.1	putative protein	1.11	0.82	0.63	AT5G67385.1	similar to non-phototropic hypocotyl-like protein	1.08	0.29	0.69
AT5G51190.1	putative protein	0.92	2.63	1.10					
AT5G51540.1	putative protein	0.99	0.49	0.81					
AT5G51720.1	expressed protein	1.20	0.44	1.14					
AT5G51890.1	peroxidase, putative	1.26	2.31	1.85					
AT5G52300.1	low-temperature-induced 65 kD protein (sp Q04380)	1.09	2.14	1.23					
AT5G52310.1	low-temperature-induced protein 78 (sp Q08738)	0.41	0.63	1.29					
AT5G52480.1	nodulin-like protein	2.07	1.75	2.01					
AT5G52780.1	putative protein	1.43	0.42	0.91					
AT5G52900.1	expressed protein	1.07	0.40	1.25					
AT5G53100.1	putative protein	0.79	0.45	0.71					
AT5G53860.1	putative protein	1.11	0.98	0.72					
AT5G54150.1	DnaJ protein-like	0.33	0.41	0.33					
AT5G54380.1	thylakoid lumenal 17.4 kD pentapeptide repeat family protein, chloroplast precursor	1.46	0.43	0.97					
AT5G54820.1	ABA-inducible protein-like	1.77	2.06	1.31					
AT5G54000.1	ethylene-forming-enzyme-like dioxygenase	2.38	1.32	1.94					
AT5G54130.1	NADPH:protochlorophyllide oxidoreductase A (gb AAC49043.1)	1.27	0.33	1.70					
AT5G54270.1	light-harvesting chlorophyll a/b binding protein, putative	1.48	0.85	1.12					
AT5G54370.1	root cap protein 2-like protein	1.34	2.41	2.29					
AT5G54490.1	putative protein	0.87	2.33	1.41					



5 倍より大きい



2~5 倍以下



0.2~0.5 倍以下



0.2 倍より小さい

要 約

植物におけるリン酸代謝機構の解明を目的とし、ゲノム生物学的手法によりリン酸飢餓応答性に関する研究を行った。ゲノムレベルでの解析を行うため、ゲノム配列情報や EST の利用が可能なシロイヌナズナを用いた。ゲノム情報を利用して大量遺伝子発現解析を行う手法として、DNA アレイ法を用いた。

ゲノム DNA アレイ法による植物遺伝子発現解析手法の開発

シロイヌナズナゲノム配列解読に使用された平均長2.9 kbのゲノム小断片クローンから、5番染色体長腕部のテロメア側の約50% (6.8 Mb) をカバーする2,541個のクローンを選抜し、ナイロンメンブレンにスポットしたゲノムDNAアレイを作製した。低温処理した植物体から抽出したmRNAを用いた結果、ゲノムDNAアレイによる遺伝子発現解析結果は、各親クローン中に予測された遺伝子構造領域とよく一致しており、低温処理に応答した特異的発現領域を見いだした。ESTの見つかっていない56個の遺伝子を含む50個のゲノムクローンを選び、サザン法とRT-PCRにより10個の新規な遺伝子発現を同定することができた。リン酸飢餓処理を行った実験では、リン欠処理に応答して遺伝子発現が変化したゲノム領域を見いだすことができた。また、6.8 Mbのゲノム領域において、遺伝子構造予測が無い領域から有意なシグナルが確認された領域が22箇所見いだされた。インターネット上の数種のゲノムデータベースを利用した結果、新規ESTやexonが追加された遺伝子を除き、非遺伝子構造領域における発現箇所を7ヶ所特定した。ゲノムDNAアレイ解析の結果、6.8 Mb領域中の6 Mbにおよぶ領域では、高密度な遺伝子発現が起きている様子が明らかとなった。

モデル植物ゲノム情報の他作物での遺伝子発現解析への利用

トマトおよびダイズの葉から抽出したmRNAを用いて、シロイヌナズナcDNAアレイにハイブリダイゼーションを行ったところ、55°C, 0.5xSSC, 15分×2回という条件で遺伝子発現プロファイリングが可能であった。アブラナ科植物*Brassica oleracea*の薬において強く発現する遺伝子を同定するため、キャベツの薬と雌蕊から抽出したmRNAをシロイヌナズナcDNAアレイにハイブリダイゼーションした。葉と比較して転写量が6倍以上増加した遺伝子クローンについて、発現パターンの類似した3つの遺伝子グループを分類することができた。薬特異的発現遺伝子25個のcDNAクローンについて、シロイヌナズナゲノム配列から設計した特異的プライマーによりRT-PCRを行った結果、19クローンは生殖器官特異的な発現遺伝子であった。さらに、RT-PCR産物の部分配列解読を行ったところ、シロイヌナズナcDNAマクロアレイにおいて特異的発現性を示したクローンは、*B. oleracea*のpoly (A)⁺ RNAから増幅されたPCR断片と同祖関係にある遺伝子であった。

シロイヌナズナ系統のリン酸応答

シロイヌナズナの247種のアクセッションを低リン酸培地(KH₂PO₄:100 μM)に無菌播種し、代表的アクセッションであるコロンビアと生育の比較を行った。この結果、コロンビアは低リン酸条件において平均的な生育を示すことがわかった。また、低リン酸条件においてシャーレ中で開花、結実したものが4系統、約2ヶ月後の観察においても緑色を保ち生育を行っているものが2系統あった。これら特徴的なアクセッションについて、リン酸欠乏培地(KH₂PO₄:100 μM)と標準リン酸培地(KH₂PO₄:1 mM)に同時に播種し、3ヶ月後に地上部の乾燥重量を比較した結果、リン酸濃度の差に応じて生長量が大きく異なる系統と、ほとんど

差を生じない系統に分かれた。

リン酸飢餓における網羅的遺伝子発現解析

無菌的な条件で液体回転培養したシロイヌナズナの植物体を用い、実験開始時の約 1/3 の量に相当する 390 μM のリン酸が残存している 21 日目にリン酸濃度を 10 μM に調整した改変 MS 培地へ移植してリン酸飢餓処理を行った。ゲノムレベルでの遺伝子発現変化を調べるため、cDNA マクロアレイと合成オリゴマイクローアレイによる解析を行った。この結果、リン酸欠乏に応答性を示すことが報告されている RNA 分解酵素 (*RNASE*)、高親和性リン酸トランスポーター (*AtPT2*)、含硫脂質合成遺伝子 (*SQD1*、*SQD2*) の転写量が増加した。解糖系では、リン酸飢餓に適応したバイパス経路 (PEP→OAA) に関与する酵素遺伝子の転写が増加した。光化学反応系の構成に関与する遺伝子や、RuBisCO タンパクに関連した遺伝子は転写量が減少した。3 つの光合成関連遺伝子 (*LSU*、*LHCP*、*PORC*) の抗体を用いたウェスタンブロットの結果から、タンパク質レベルでも同様に減少していることが明らかとなった。カルビン回路に関与する遺伝子について調べたところ、全体に発現が減少しており、リン酸飢餓により葉緑体の活性が低下していることが示唆された。

以上のことから、植物ではリン酸飢餓に応答してリン酸の吸収増大を行い、一方では代謝経路や光合成系においてリン酸消費を抑制あるいは有効利用している様子が遺伝子転写レベルにおいて明らかとなった。DNA アレイ法により、ゲノムワイドな植物のリン酸飢餓応答性が解明できた。

Summary

To elucidate the mechanism of phosphate metabolism in plants, research on a phosphate-starvation response was done by using the genome biological technique. In order to perform the analysis on a genome-wide level, a model *Arabidopsis thaliana* plant was used from which genome sequence information and an EST clone could be taken. The DNA array method was used to perform high-throughput gene-expression analysis.

Development of a plant gene-expression analysis technique by the genome DNA array method

Using *Arabidopsis thaliana*, 2,541 clones covering about 50% (6.8 Mb) of the telomere side of the long-arm region of chromosome 5 were selected from bridge clones with an average length of 2.9 kb. The clones were used in whole-genome sequencing to prepare a genome DNA macroarray. Through the use of mRNA extracted from a cold-temperature-treated plant, it was confirmed that the gene-predicted region *in silico* and the gene-expression region analyzed by the genome DNA array were similar. A specific expression region was found in response to low-temperature treatment. In 50 bridge clones, including 56 genes in which EST had not been found, our genome DNA array was able to identify 10 new expression genes through the reverse Southern method and RT-PCR. Likewise, the phosphate-starvation experiment indicated a specific genome region in response to Pi-starvation treatment. In addition, 22 meaningful signals were found in which a gene structure was not predicted in 6.8 Mb of the genome region. By researching several genome databases on the Web and removing the regions including newly acquired EST and revised exons, we identified seven regions of expression clones although no gene structure existed. The result of genome DNA array analysis clarified that high-density gene expression occurred in 6 Mb out of 6.8 Mb of the plant genome.

The use of model plant genome information in gene-expression analysis with other crops

Gene-expression profiling was possible when hybridization was done in the *Arabidopsis* cDNA macroarray with heterogeneous mRNA from tomato and soybean extracted from leaf under final conditions of 55°C, 0.5 x SSC, 15 min × 2 times. In order to identify anther-tissue-specific expressed genes in *Brassica oleracea*, mRNA was extracted from the anther and pistil of cabbage and was used as a target. Hybridization was done in the *Arabidopsis* cDNA macroarray. Specifically expressional clones such that quantity of transcriptions increased more than six times compared with that in leaf were selected and classified into three gene groups with similar expression patterns. As a result of RT-PCR with a gene-specific primer referring to the *Arabidopsis* genome sequence, about 25 *Brassica oleracea* derived anther-specific cDNA clones; 19 clones were identified as reproductive-organ-specific genes. Furthermore, sequence information on tissue-specific

expression clones in *Arabidopsis* cDNA macroarray and product fragments from RT-PCR amplified by poly (A) + RNA of *B. oleracea* had a synthetic relation.

Phosphate response diversity in *Arabidopsis* accessions

A total of 247 kinds of *Arabidopsis* accessions were aseptically sown and grown on low-Pi medium (KH_2PO_4 : 100 μM) for comparison with Columbia (Col-0). The results of this experiment demonstrated that the response of Col-0 for low Pi was moderate in the accessions. Interestingly, four accessions flowered and fruited in the culture dish, and two remained green after 2 months. To evaluate the sensitivity to the Pi concentration, accessions and Col-0 were grown in two types of Pi nutrient medium (MS basal medium, but KH_2PO_4 was changed to 100 μM or 1 mM), and the dry weights of the ground regions were compared 3 months later. Accessions were classified by the growth ratio. Most accessions showed growth ratios similar to those of Col-0, but three of them (JA62, 63, 242) showed changes 2 to 7 times greater, and two of them (JA215, 231) did not change, depending on the Pi concentration.

Response to Pi starvation detected by cDNA array

Liquid-cultured *Arabidopsis* plants were transplanted to the MS nutrient medium in which the phosphoric acid concentration was adjusted to 10 μM on the 21st day, when the level of phosphoric acid was decreased to 1/3 quantity (390 μM) at the beginning of the experiment. The plants remained in phosphoric acid starvation for 72 hours. To analyze an influence of Pi starvation on gene expression on a genome-wide level, the cDNA macroarray and oligo-microarray methods were used for the profile. The result showed that the expressions of ribonuclease1 (*RNS1*), phosphoric acid transporter (*AtPT2*) and sulpholipid synthesis genes (*SQD1*, *SQD2*) increased. In the sucrose degradation pathway, increases also occurred in the alternative pathways ($\text{PEP} \rightarrow \text{OAA}$) for genes adaptive to phosphate deprivation. On the other hand, expression levels decreased for the genes involved in the composition of a photochemical reaction system and the gene relevant to the RuBisCO protein. A similar decrease on the translation level became clear from the result of Western blot hybridization using the antibody of three photosynthesis-related genes (LSU, LHCP, PORC). The results of an investigation into the Calvin cycle showed a decrease in gene expression at least five genes which contained RuBisCo and G-3-P Dehydrogenase, suggesting that chloroplast activity decreases during phosphate starvation. The above result showed that, on the gene-expression level, the plants had many strategies for coping with phosphate deprivation. The absorption of Pi from soil increased, but energy consumption, energy production and photosynthesis were regulated. Through the use of the DNA array method, the phosphate-starvation response in plants has been clarified on a genome-wide level.

謝 辞

本研究の遂行にあたり、終始御指導を賜りました、東北大学大学院生命科学研究科、柴田大輔教授(かずさ DNA 研究所植物第 2 研究室長)に心から感謝いたします。本論文の作成にあたり、有益な御助言とご教示を賜りました東北大学大学院生命科学研究科、西谷和彦教授、東谷篤志教授ならびに長瀬隆弘教授、佐藤修正助教授に感謝の意を表します。

DNA アレイに関する研究にあたり、多大なる御指導とゲノムクローン並びに cDNA クローンを分与していただきました、かずさ DNA 研究所植物遺伝子研究部長、田畑哲之博士、ならびにヒト oestrogen-related receptor γ 遺伝子を分与していただきました、かずさ DNA 研究所ヒト遺伝子研究部長、小原収博士、ならびに光合成関連タンパク質 LSU、PORC、LHCP 抗体の分与とウェスタン法を御教授いただきました、東京工業大学生命理工学研究科、太田啓之助教授に感謝致します。

シロイヌナズナの生殖器官特異的遺伝子の単離に関しまして、終始適切な御助言とご協力を賜りました東北大学名誉教授、日向康吉博士(現、岩手生物工学研究センター所長)、ならびに東北大学農学部、鳥山欣也教授、ならびに岩手大学農学部、渡辺正夫助教授に深く感謝いたします。また、共同研究者として、貴重なデータを提供頂きました、東北大学大学院農学研究科、有泉亨博士ならびに岩手大学農学部、遠藤誠博士に深く感謝の意を表します。

シロイヌナズナのアクセッションにつきまして、御指導ならびに種子を分与いただきました、宮城教育大学、後藤伸治教授に厚く感謝いたします。

本研究の初期に、シロイヌナズナゲノム情報について熱心に御指導いただきました、かずさ DNA 研究所、中村保一博士に感謝いたします。本研究の共同研究者としてご協力いただきました、かず

さ DNA 研究所植物第 1 研究室、金子貴一博士、浅水恵理香氏、並びに植物第 2 研究室、櫻井望博士、深見正信氏(現、千葉県農業総合研究センター)、桑田主税氏(現、千葉県農業総合研究センター)、津金胤昭氏(現、千葉県農業総合研究センター)に感謝いたします。

リン酸濃度測定に関して貴重な御指導をいただきました本島俊明氏(現、栃木県農業大学校)に感謝いたします。

本研究の遂行にあたり、終始暖かい励ましをいただき、様々な形でご支援いただきました栃木県農業試験場生物工学部の皆様に感謝いたします。

最後になりましたが、かずさ DNA 研究所での研究の機会を与えてくださいました渡辺文雄元栃木県知事をはじめ、東奔西走いただきました多くの栃木県庁職員の皆様に、深く感謝申し上げます。

引用文献

- Abel S, Carla A, Ticconi CA, Carla Delatorre (2002) Phosphate sensing in higher plants. *Physiol Plant*, 115:1-8.
- Alonso-Blanco C, Blankestijn-de Vries H, Hanhart CJ, Koornneef M (1999) Natural allelic variation at seed size loci in relation to other life history traits of *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci USA*. 96:4710-4717.
- Ariizumi T, Amagai M, Shibata D, Hatakeyama K, Watanabe M, Toriyama K (2002) Comparative study of promoter activity of three anther-specific genes encoding lipid transfer protein, xyloglucan endotransglucosylase /hydrolase and polygalacturonase in trans-genic *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Rep* 21: 90-96.
- Arondel V, Vergnolle C, Cantrel C, Kader J (2000) Lipid transfer proteins are encoded by a small multigene family in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Sci*. 8:157:1-12.
- Asamizu E, Nakamura Y, Sato S, Tabata S (2000) A large scale analysis of cDNA in *Arabidopsis thaliana*: generation of 12,028 non-redundant expressed sequence tags from normalized and size-selected cDNA libraries. *DNA Res*, 7, 175-180.
- Awai K, Marechal E, Block MA, Brun D, Masuda T, Shimada H, Takamiya K, Ohta H, Joyard J (2001) Two types of *MGDG* synthase genes, found widely in both 16:3 and 18:3 plants, differentially mediate galactolipid syntheses in photosynthetic and nonphotosynthetic tissues in *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci USA*. 98: 10960-10965.
- Baker B, Zambryski P, Staskawicz B, Dinesh-Kumar SP (1997) Signaling in plant-microbe interactions. *Science*. 276: 726-733.
- Baldwin D, Crane V, Rice D (1999) A comparison of gel-based, nylon filter and microarray techniques to detect differential RNA expression in plants. *Curr Opin Plant Biol*. 2:96-103.
- Baldwin JC, Karthikeyan AS, Raghothama KG (2001) Leps2, a phosphorus starvation induced novel acid phosphatase from tomato. *Plant Physiology*. 125:728-737.
- Bariola PA, MacIntosh GC, Green PJ (1999) Regulation of S-like ribonuclease levels in *Arabidopsis*. Antisense inhibition of *RNS1* or *RNS2* elevates anthocyanin accumulation. *Plant Physiol*. 119:331-342.
- Bates TR, Lynch JP (1996) Stimulation of root hair elongation in *Arabidopsis thaliana* by low phosphorus availability. *Plant Cell Environ*. 19 529-538.
- Bennetzen JL, Ma J (2003) The genetic colinearity of rice and other cereals on the basis of genomic sequence analysis. *Curr Opin Plant Biol*. 6:128-133.
- Benning C, Beatty JT, Prince RC, Somerville C (1993) The sulfolipid sulfoquinovosyl diacylglycerol is not required for photosynthetic electron transport in *Rhodobacter sphaeroides* but enhances growth under phosphate limitation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 90 1561-1565.
- Bhalerao R, Nilsson O, Sandberg G (2003) Out of the woods: forest biotechnology enters the genomic era. *Curr Opin Biotechnol*. 14:206-213.

- Bieleski RL (1973) Phosphate pools, phosphate transport, and phosphate availability : *Ann. Rev. Plant. Physiol.* 24 225-252.
- Bouché D, Hofte H (1998) Functional genomics in plants. *Plant Physiol*, 118, 725-732.
- Brown JW, Echeverría M, Qu LH, Lowe TM, Bachellerie JP, Huttenhofer A, Kastenmayer JP, Green PJ, Shaw P, Marshall DF (2003) Plant snoRNA database. *Nucleic Acids Res.* 31: 432-435.
- Bun-Ya M, Nishimura M, Harashima S, Oshima Y (1991) The PH084 gene of *Saccharomyces cerevisiae* encodes an inorganic phosphate transporter. *Mol. Cell. Biol.* 11 3229-3238.
- Cavell AC, Lydiate D, Parkin IAP, Dean C, Trick M (1998) Collinearity between a 30centimorgan segment in *Arabidopsis thaliana* chromosome 4 and duplicated regions within the *Brassica napus* genome. *Genome* 41: 62-69
- Chen DL, Delatorre CA, Bakker A, Abel S (2000) Conditional identification of phosphate starvation response mutants in *Arabidopsis thaliana*. *Planta*. 211 13-22.
- Chiou TJ, Liu H, Harrison MJ (2001) The spatial expression patterns of a phosphate transporter (*MtPT1*) From *Medicago truncatula* indicate a role in phosphate transport at the root/soil interface. *Plant J.* 25:281-293.
- Church GM, Gilbert W (1984) Genomic sequencing. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 81: 1991- 1995.
- Ciereszko I, Johansson H, Hurry V, Kleczkowski LA (2001) Phosphate status affects the gene expression, protein content and enzymatic activity of UDP-glucose pyrophosphorylase in wild-type and pho mutants of *Arabidopsis*. *Planta*. 212:598-605.
- Dawid IB, Toyama R, Taira M (1995) LIM domain proteins. *C R Acad Sci III* .318:295-306
- del Pozo JC, Allona I, Rubio V, Leyva A, de la Pena A, Aragoncillo C, Paz-Ares J (1999) A type 5 acid phosphatase gene from *Arabidopsis thaliana* is induced by phosphate starvation and by some other types of phosphate mobilizing /oxidative stress conditions. *Plant J.* 19:579-589.
- Delhaize E, Randall PJ (1995) Characterization of a Phosphate-Accumulator mutant of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol.* 107: 207- 213.
- DeRisi JL, Lyer VR, Brown PO (1997) Exploring the metabolic and genetic control of Gene expression on a genomic scale. *Science*. 278, 680-686.
- Desikan R, A-H-Mackerness S, Hancock JT, Neill SJ (2001) Regulation of the *Arabidopsis* transcriptome by oxidative stress. *Plant Physiol.* 127:159-172.
- Desprez T, Amselem J, Caboche M, Hofte H (1998) Differential gene expression in *Arabidopsis* monitored using cDNA arrays. *Plant J*, 14, 643-652.
- Duff SM, Plaxton WC, Lefebvre DD, Eisen MB, Spellman PT, Brown PO, Botstein D (1998) Cluster analysis and display of genome-wide expression patterns. *Proc Natl Acad Sci USA* 95:14863-14868
- Eisen MB, Spellman PT, Brown PO, Botstein D (1998) Cluster analysis and display of genome-wide expression patterns. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 95:14863-14868.
- Essigmann B, Guler S, Narang RA, Linke D, Benning C (1998) Phosphate availability

- affects the thylakoid lipid composition and the expression of *SQD1*, a gene required for sulfolipid biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 95: 1950-1955.
- Ferro M, Salvi D, Riviere-Rolland H, Vermaat T, Seigneurin-Berny D, Grunwald D, Garin J, Joyard J, Rolland N (2002) Integral membrane proteins of the chloroplast envelope : identification and subcellular localization of new transporters. *Proc Natl Acad Sci USA*. 99:11487-11492.
- Fujiwara T, Hirai MY, Chino M, Komeda Y, Naito S (1992) Effects of sulfur nutrition on expression of the soybean seed storage protein genes in transgenic petunia: *Plant Physiol*. 99 263-268.
- Fulton TM, Van der Hoeven R, Eannetta NT, Tanksley SD (2002) Identification, analysis, and utilization of conserved ortholog set markers for comparative genomics in higher plants. *Plant Cell*. 14:1457-1467.
- Gamborg OL, Miller RA, Ojima K (1968) Nutrient requirement suspension cultures of Soybean root cells, *Exp. Cell Res*. 50: 151-158.
- Girke T, Todd J, Ruuska S, White J, Benning C, Ohlrogge J (2000) Microarray analysis of developing *Arabidopsis* seeds. *Plant Physiol*. Dec:124(4):1570-1581.
- Goldstein AH, Beartlein DA, McDaniel RG (1988) Phosphate starvation inducible metabolism in *Lycopersicon esculentum* : I. Excretion of acid phosphatase by tomato plants and suspension cultured cells. *Plant Physiol*. 87 711-715.
- Grewal SI, Moazed D (2003) Heterochromatin and epigenetic control of gene expression. *Science*. 301 :798-802.
- Hamburger D, Rezzonico E, MacDonald-Comber Petetot J, Somerville C, Poirier Y (2002) Identification and characterization of the *Arabidopsis PHO1* gene involved in phosphate loading to the xylem. *Plant Cell*. 14: 889-902.
- Hammond JP, Bennett MJ, Bowen HC, Broadley MR, Eastwood DC, May ST, Rahn C, Swarup R, Woolaway KE, White PJ (2003) Changes in gene expression in *Arabidopsis* shoots during phosphate starvation and the potential for developing smart plants. *Plant Physiol*. 132:578-596.
- Härtel H, Essigmann B, Lokstein H, Hoffmann-Benning S, Peters-Kottig M, Benning C (1998) The phospholipid-deficient *pho1* mutant of *Arabidopsis thaliana* is affected in the organization, but not in the light acclimation, of the thylakoid membrane. *Bioch. Biophys. Acta*. 1415 205-218
- Higginson T, Li SF, Parish RW. (2003) *AtMYB 103* regulates tapetum and trichome development in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*. 35:177-192.
- Hirai MY, Fujiwara T, Goto K, Komeda Y, Chino M, Naito S (1994) Differential regulation of soybean seed storage protein gene promoter-GUS fusions by exogenously applied methionine in transgenic *Arabidopsis thaliana* . *Plant Cell Physiol*. 35:927-934.
- Hirsch RE, Sussman MR (1999) Improving nutrient capture from soil by the genetic manipulation of crop plants. *TIBTECH* .11:356-361
- Hughes TR, Mao M, Jones AR, Burchard J, Marton MJ, Shannon KW, Lefkowitz SM, Ziman M, Schelter JM, Meyer MR, Kobayashi S, Davis C,

- Dai H, He YD, Stephanian SB, Cavet G, Walker WL, West A, Coffey E, Shoemaker DD, Stoughton R, Blanchard AP, Friend SH, Linsley PS (2001) Expression profiling using microarrays fabricated by an ink-jet oligonucleotide synthesizer. *Nat Biotechnol*.19:342-347.
- Job D (2002) Plant biotechnology in agriculture. *Biochimie*.84:1105-1110.
- Jones L (2002) Revealing micro-RNAs in plants. *Trends Plant Sci*.7:473-475.
- Kanaya S, Kinouchi M, Abe T, Kudo Y, Yamada Y, Nishi T, Mori H, Ikemura T (2001) Analysis of codon usage diversity of bacterial genes with a self-organizing map (SOM): characterization of horizontally transferred genes with emphasis on the E. coli 0157 genome. *Gene*. 276:89-99.
- Karthikeyan AS, Varadarajan DK, Mukatira UT, D'Urzo MP, Damsz B, Raghothama KG (2002) Regulated expression of *Arabidopsis* phosphate transporters. *Plant Physiol*. 130: 221-233.
- Kehoe DM, Villand P, Somerville S (1999) DNA micro arrays for studies of higher plants and other photosynthetic organisms. *Trends Plant Sci*.4:38-41.
- Kelly AA, Dormann P (2002) DGD2, and *Arabidopsis* gene encoding a UDP-galactose-dependent digalactosyl-diacylglycerol synthase, is expressed during growth under phosphate-limiting conditions: *J. Biol. Chem*. 277:1166-1173.
- Kim HU, Chung TY (1997) Characterization of three anther-specific genes isolated from Chinese cabbage. *Plant Mol Biol*.33:193-198
- Koyama H, Kawamura A, Kihara T, Hara T, Takita E, Shibata D (2000) Over expression of mitochondrial citrate synthase in *Arabidopsis thaliana* improved growth on a phosphorus-limited soil. *Plant Cell Physiol*. 41: 1030-1037.
- Kuhn EJ, Geyer PK (2003) Genomic insulators connecting properties to mechanism. *Curr Opin Cell Biol*. 15:259-265.
- Laemmli UK (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 227:680-685.
- Lashkari DA, DeRisi JL, McCusker JH, Namath AF, Gentile C, Hwang SY, Brown PO, Davis RW (1997) Yeast microarrays for genome wide parallel genetic and gene expression analysis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94, 13057-13062.
- Liu YG, Mitsukawa N, Vazquez-Tello A, Whittier RF (1995) Generation of a high quality P1 library of *Arabidopsis* suitable for chromosome walking. *Plant J*.7:351-358.
- Liu YG, Shoran Y, Dukakis H, Lanai Y, Task M, Tabata S, Shibata D (1999) Complementation of plant mutants with large genomic DNA fragments by a transformation-competent artificial chromosome vector accelerates positional cloning. *Proc Natl Acad Sci USA*.96:6535-6540.
- Lenburg ME, O'Shea EK (1996) Signaling phosphate starvation. *Trends Biochem Sci*. 21: 383-387.
- Li SF, Higginson T, Parish RW (1999) A novel MYB-related gene from *Arabidopsis thaliana* expressed in developing anthers. *Plant Cell Physiol* . 40: 343- 347.
- Llave C, Kasschau KD, Rector MA, Carrington JC (2002) Endogenous and silencing associated

- small RNAs in plants. *Plant Cell*. 14: 1605-1619.
- Lockhart DJ, Winzler EA (2000) Genomics, gene expression and DNA arrays. *Nature*. 405:827-836.
- López-Bucio J, de la Vega OM, Guevara- García A, Herrera-Estrella L (2000) Enhanced phosphorus uptake in transgenic tobacco plants that over-produce citrate: *Nat. Biotechnol* . 18:450-453.
- Luff B, Pawlowski L, Bender, J (1999) An inverted repeat triggers cytosine methylation of identical sequences in *Arabidopsis*. *Mol. Cell*. 3:505-511.
- Masuda T, Fusada N, Oosawa N, Takamatsu K, Yamamoto YY, Ohto M, Nakamura K, Goto K, Shibata D, Shirano Y, Hayashi H, Kato T, Tabata S, Shimada H, Ohta H, Takamiya KI (2003) Functional Analysis of Isoforms of NADPH:Protochlorophyllide Oxidoreductase (*POR*), *PORB* and *PORC*, in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol*. 44:963-974.
- Mayfield JA, Preuss D (2000) Rapid initiation of *Arabidopsis* pollination requires the oleosin-domain protein *GRP17*. *Nature Cell Biol*. 2:128-130.
- Mayfield JA, Fiebig A, Johnstone SE, Preuss D (2001) Gene families from the *Arabidopsis thaliana* pollen coat proteome. *Science*. 292: 2482-2485.
- Meinke DW, Cherry JM, Dean C, Rounsley SD, Koornneef M (1998) *Arabidopsis thaliana*: a model plant for genome analysis. *Science*. 282: 662-665.
- Meissner RC, Jin H, Cominelli E, Denekamp M, Fuertes A, Greco R, Kranz HD, Penfield S, Petroni K, Urzainqui A, Martin C, Paz-Ares J, Smeekens S, Tonelli C, Weisshaar B, Baumann E, Klimyuk V, Marillonnet S, Patel K, Speulman E, Tissier AF, Bouchez D, Jones JDG, Pereira A, Wisman E, Bevan M (1999) Function search in a large transcription factor gene family in *Arabidopsis*: assessing the potential of reverse genetics to identify insertional mutations in *R2R3 MYB* genes. *Plant Cell*. 11:1827-1840.
- 三村徹郎, 三橋尚登, 関口陽子, 大西美輪 (2003) リン酸の輸送と細胞内分配. 蛋白核酸酵素. 48:2044-2051.
- Mitsukawa N, Okumura S, Shirano Y, Sato S, Kato T, Harashima S, Shibata D. (1997) Over-expression of an *Arabidopsis thaliana* high-affinity phosphate transporter gene in tobacco cultured cells enhances cell growth under phosphate-limited conditions. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 94:7098-7102.
- Morgante M, Salamini F (2003) From plant genomics to breeding practice. *Curr Opin Biotechnol*. 14:214-219.
- Muchhal US, Pardo JM, Raghothama KG (1996) Phosphate transporters from the higher plant *Arabidopsis thaliana*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 93:10519-10523.
- Mudge SR, Rae AL, Diatloff E, Smith FW (2002) Expression analysis suggests novel roles for members of the *PHT1* family of phosphate transporters in *Arabidopsis*. *Plant J*. 31:341-53.
- Mukatira UT, Liu C, Varadarajan DK, Raghothama KG (2001) Negative regulation of phosphate starvation induced genes. *Plant Physiol*. 127: 1854-1862.

- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant*, 15:473-497.
- Narang RA, Bruene A, Altmann T (2000) Analysis of phosphate acquisition efficiency in different *Arabidopsis* accessions. *Plant Physiol.* 124:1786-1799.
- Natr L (1992) Mineral nutrients-a ubiquitous stress factor for photosynthesis: *Photo-synthetic*. 7:271-294.
- Nishitani K (1997) The role of endoxyloglucan transferase in the organization of plant cell walls. *Int Rev Cytol.* 173:157-206.
- Nishitani K, Tominaga R (1992) Endo-xyloglucan transferase, a novel class of glycosyl transferase that catalyzes transfer of a segment of xyloglucan molecule to another xyloglucan molecule. *J Biol Biochem* 267:21058-21064.
- Nr nberger T, Abel S, Jost W, Glund K (1990) Induction of an extracellular ribonuclease in cultured cells upon phosphate starvation. *Plant Physiol.* 92:970-976.
- Okumura S, Mitsukawa N, Shirano Y, Shibata D (1998) Phosphate transporter gene family of *Arabidopsis thaliana*. *DNA Res.* 5:261-269.
- Ogawa N, DeRisi J, Brown PO (2000) New components of a system for phosphate accumulation and polyphosphate metabolism in *Saccharomyces cerevisiae* revealed by genomic expression analysis. *Mol. Biol. Cell.* 11:4309-4321.
- Poirier Y, Thoma S, Somerville C, Schiefelbein J (1991) A mutant of *Arabidopsis* deficient in xylem loading of phosphate. *Plant Physiol.* 97:1087-1093.
- Preuss D, Lemieux B, Yen G, Davis RW (1993) A conditional sterile mutation eliminates surface components from *Arabidopsis* pollen and disrupts cell signaling during fertilization. *Genes Dev.* 7:974-985.
- Qu LH, Meng Q, Zhou H, Chen YQ, Liang-Hu Q, Qing M, Hui Z, Yue-Qin C (2001) Identification of 10 novel snoRNA gene clusters from *Arabidopsis thaliana*. *Nucleic Acids Res.* 29:1623-1630. (Erratum in: *Nucleic Acids Res* 29(9)).
- Ramsay, G (1998) DNA chips: state of the art. *Nature Biotechnol.* 16:40-44.
- Richardson AE, Hadobas PA, Hayes JE (2001) Extracellular secretion of *Aspergillus* phytase from *Arabidopsis* roots enables plants to obtain phosphorus from phytate. *Plant J.* 25:641-649.
- Rubinelli P, Hu Y, Ma H (1998) Identification, sequence analysis and expression studies of novel anther-specific genes of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Mol Biol.* 37:607-619
- Rubio V, Linhares F, Solano R, Martin AC, Iglesias J, Leyva A, Paz-Ares J (2001) A conserved *MYB* transcription factor involved in phosphate starvation signaling both in vascular plants and in unicellular algae. *Genes Dev.* 15:2122-2133.
- Sanders PM, Bui AQ, Weterings K, McIntire KN, Hsu Y-C, Lee PY, Truong MT, Beals TP, Goldberg RB (1999) Anther developmental defects in *Arabidopsis thaliana* male-sterile mutants. *Sex Plant Reprod.* 11:297-322.
- Sasaki T, Sederoff RR (2003) Genome studies and molecular genetics: The rice genome and comparative genomics of higher plants. *Curr*

- Opin Biotechnol.* 6:97- 100.
- Sasaki Y, Asamizu E, Shibata D, Nakamura Y, Kaneko T, Awai K, Amagai M, Kuwata C, Tsugane T, Masuda T, Shimada H, Takamiya K, Ohta H, Tabata S (2001) Monitoring of methyl Jasmonate responsive genes in *Arabidopsis* by cDNA macroarray : self-activation of jasmonic acid biosynthesis and crosstalk with other phytohormone signaling pathways. *DNA Res.*8:153-161.
- Sato S, Kotani H, Nakamura Y, Kaneko T, Asamizu E, Fukami M, Miyajima N, Tabata S (1997) Structural analysis of *Arabidopsis thaliana* chromosome 5. I. Sequence features of the 1.6 Mb regions covered by twenty physically assigned P1 clones. *DNA Res.*4:215-230.
- Schachtman DP, Reid RJ, Ayling SM (1998) Phosphorus uptake by plants: from soil to cell: *Plant Physiol.* 116 447-453.
- Schaffer R, Landgraf J, Perez-Amador M, Wisman E (2000) Monitoring genome- wide expression in plants. *Current Opinion in Biotech.*11: 162-167.
- Schmidt W, Schikora A (2001) Different pathways are involved in phosphate and iron stress-induced alterations of root epidermal cell development. *Plant Physiol.* 125: 2078-2084.
- Seki M, Narusaka M, Ishida J, Nanjo T, Fujita M, Oono Y, Kamiya A, Nakajima M, Enju A, Sakurai T, Satou M, Akiyama K, Taji T, Yamaguchi-Shinozaki K, Carninci P, Kawai J, Hayashizaki Y, Shinozaki K (2002) Monitoring the expression profiles of 7000 *Arabidopsis* genes under drought, cold and high-salinity stresses using a full-length cDNA microarray. *Plant J.* 31:279-292.
- Selinger DW, Cheung KJ, Mei R, Johansson EM, Richmond CS, Blattner FR, Lockhart DJ, Church GM (2000) RNA expression analysis using a 30 base pair resolution Escherichia coli genome array. *Nature Biotechnol.* 18,1262-1268.
- Shena M, Shalon D, Davis RW, Brown PO (1995) Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. *Science.*270:467-470.
- Schenk PM, Kazan K, Wilson I, Anderson JP, Richmond T, Somerville SC, Manners JM (2000) Coordinated plant defense responses in *Arabidopsis* revealed by microarray analysis. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.*97:11655- 11660.
- Shimizu KK, Okada K (2000) Attractive and repulsive interactions between female and male gametophytes in *Arabidopsis* pollen tube guidance. *Development.*127:4511-4518
- Smith FW, Ealing PM, Dong B, Delhaize E (1997) The cloning of two *Arabidopsis* genes belonging to a phosphate transporter family. *Plant J.*11:83-92.
- Somerville C, Somerville S (1999) Plant Functional Genomics. *Science.* 285:380- 383.
- Tabata S, Kaneko T, Nakamura Y, Kotani H, Kato T, Asamizu E, Miyajima N, Sasamoto S, Kimura T, Hosouchi T, Kawashima K, Kohara M, Matsumoto M, Matsuno A, Muraki A, Nakayama S, Nakazaki N, Naruo K, Okumura S, Shinpo S, Takeuchi C, Wada T, Watanabe A, Yamada M, Yasuda M, Sato S, de la Bastide M, Huang E, Spiegel L, Gnoj L, O'Shaughnessy A, Preston R, Habermann K, Murray J, Johnson D, Rohlfing T, Nelson J, Stoneking T, Pepin K, Spieth J, Sekhon M, Armstrong J, Becker M, Belter E,

- Cordum H, Cordes M, Courtney L, Courtney W, Dante M, Du H, Edwards J, Fryman J, Haakensen B, Lamar E, Latreille P, Leonard S, Meyer R, Mulvaney E, Ozersky P, Riley A, Strowmatt C, Wagner-McPherson C, Wollam A, Yoakum M, Bell M, Dedhia N, Parnell L, Shah R, Rodriguez M, See LH, Vil D, Baker J, Kirchoff K, Toth K, King L, Bahret A, Miller B, Marra M, Martienssen R, McCombie WR, Wilson RK, Murphy G, Bancroft I, Volckaert G, Wambutt R, Dusterhoft A, Stiekema W, Pohl T, Entian KD, Terryn N, Hartley N, Bent E, Johnson S, Langham SA, McCullagh B, Robben J, Grymonprez B, Zimmermann W, Ramsperger U, Wedler H, Balke K, Wedler E, Peters S, van Staveren M, Dirkse W, Mooijman P, Lankhorst RK, Weitzenegger T, Bothe G, Rose M, Hauf J, Berneiser S, Hempel S, Feldpausch M, Lamberth S, Villarroel R, Gielen J, Ardiles W, Bents O, Lemcke K, Kolesov G, Mayer K, Rudd S, Schoof H, Schueller C, Zaccaria P, Mewes HW, Bevan M, Fransz P: Kazusa DNA Research Institute: Cold Spring Harbor and Washington University in St Louis Sequencing Consortium: European Union *Arabidopsis* Genome Sequencing Consortium (2000) Sequence and analysis of chromosome 5 of the plant *Arabidopsis thaliana*. *Nature*. 408:823-6.
- Takada T, Ito A, Ninomiya C, Kakizaki T, Takahata Y, Suzuki G, Hatakeyama K, Hinata K, Shiba H, Takayama S, Isogai A, Watanabe M (2001) Characterization of expressed genes in the SLL2 region of self-compatible *Arabidopsis thaliana*. *DNA Res.* 8:215-219.
- Takayama S, Shiba H, Iwano M, Shimosato H, Che F-S, Kai N, Watanabe M, Suzuki G, Hinata K, Isogai A (2000a) The pollen determinant of self-incompatibility in *Brassica campestris*. *Proc Natl Acad Sci USA*. 97:1920- 1925.
- Takayama S, Shiba H, Iwano M, Asano K, Hara M, Che F-S, Watanabe M, Hinata K, Isogai A (2000b) Isolation and characterization of pollen coat proteins of *Brassica campestris* that interact with S locus-related glycoprotein 1 involved in pollen-stigma adhesion. *Proc. Natl Acad Sci USA*. 97:3765-3770.
- The *Arabidopsis* Genome Initiative (2000) Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*. *Nature*. 408:796-815.
- Theodorou ME, Plaxton WC (1993) Metabolic adaptations of Plant Respiration to Nutritional Phosphate Deprivation. *Plant Physiol*. 101:339-344.
- Thimm O, Essigmann B, Kloska S, Altmann T, Buckhout TJ (2001) Response of *Arabidopsis* to iron deficiency stress as revealed by microarray analysis. *Plant Physiol*. 127:1030-1043 (Erratum in: *Plant Physiol* 128:780)
- Tissier AF, Marillonnet S, Klimyuk V, Patel K, Torres MA, Murphy G, Jones JDG (1999) Multiple independent defective suppressor- mutator transposon insertions in *Arabidopsis*: a tool for functional genomics. *Plant Cell*. 11: 1841-1852.
- Tilman D, Fargione J, Wolff B, D'Antonio C, Dobson A, Howarth R, Schindler D, Schlesinger WH, Simberloff D, Swackhamer D (2001) Forecasting agriculturally driven global environmental change: *Science*. 292: 281-284.
- Torki M, Mandaron P, Thomas F, Quigley F, Mache

- R, Falconet D (1999) Differential expression of a Polygalacturonase gene family in *Arabidopsis thaliana*. *Mol Gen Genet.* 261: 948-952.
- Twell D, Park SK, Lallanée E (1998) Asymmetric division and cell-fate determination in developing pollen. *Trend Plant Sci.* 8:305-310.
- Vance CP (2001) Symbiotic nitrogen fixation and phosphorus acquisition. Plant nutrition in a world of declining renewable resources. *Plant Physiol.* 127:390-397.
- Varadarajan DK, Karthikeyan AS, Matilda PD, Raghothama KG (2002) Phosphite, an analog of phosphate, suppresses the coordinated expression of genes under phosphate starvation. *Plant Physiol.* 129:1232-1240.
- Vega-Palas MA, Ferl RJ (1995) The *Arabidopsis* Adh gene exhibits diverse nucleosome arrangements within a small DNase I-sensitive domain. *Plant Cell.* 7:1923-1932.
- Versaw WK, Harrison MJ (2002) A chloroplast phosphate transporter, *PHT2:1*, influences allocation of phosphate within the plant and phosphate-starvation responses. *Plant Cell.* 14 : 1751-1766.
- Vershinin AV, Heslop-Harrison JS (1998) Comparative analysis of the nucleosomal structure of rye, wheat and their relatives. *Plant Mol. Biol.* 36:149-161.
- Wang YH, Garvin DF, Kochian LV. (2001) Nitrate-induced genes in tomato roots. Array analysis reveals novel genes that may play a role in nitrogen nutrition. *Plant Physiol.* 127:345-359.
- Watanabe M, Shiozawa H, Isogai A, Suzuki A, Takeuchi T, Hinata K (1991) Existence of S-glycol protein-like proteins in anthers of self-incompatible species of Brassica. *Plant Cell Physiol.* 32:1039-1047.
- Watanabe M, Suzuki G, Toriyama K, Takayama S, Isogai A, Hinata K (1999) Two anther-expressed genes downstream of SLG9: identification of a novel S-linked gene specifically expressed in anthers at the uninucleate stage of Brassica campestris (syn. rapa) L. *Sex Plant Reprod.* 12:127-134.
- Watanabe M, Ito A, Ninomiya C, Kakizaki T, Takahata Y, Hatakeyama K, Hinata K, Suzuki G, Takasaki T, Satta Y, Shiba H, Takayama S, Isogai A (2000) Highly divergent sequences of the pollen self-incompatibility (S) gene in class-I S haplotypes of Brassica campestris (syn. rapa) L. *FEBS Lett.* 473:139-144.
- Wilson ZA, Morroll SM, Dawson J, Swarup R, Tighe PJ. (2001) The *Arabidopsis* male sterility1 (*MS1*) gene is a transcriptional regulator of male gametogenesis, with homology to the PHD-finger family of transcription factors. *Plant J.* 28:27-39.
- Wortman JR, Haas BJ, Hannick LI, Smith RK Jr, Maiti R, Ronning CM, Chan AP, Yu C, Ayele M, Whitelaw CA, White OR, Town CD (2003) Annotation of the Arabidopsis genome. *Plant Physiol.* 132:461-468.
- Wu P, Ma L, Hou X, Wang M, Wu Y, Liu F, Deng XW (2003) Phosphate starvation triggers distinct alterations of genome expression in *Arabidopsis* roots and leaves. *Plant Physiol.* 132:1260-1271.
- Wykoff DD, Davies JP, Melis A, Grossman AR (1998) The regulation of photosynthetic electron Transport during nutrient

- deprivation in *Chlamydomonas reinhardtii*.
Plant Physiol. 117:129-139.
- Yamaguchi H, Nakanishi H, Nishizawa NK, Mori S
 (2000) Isolation and characterization of IDI2,
 a new Fe-deficiency-induced cDNA from
 barley roots, which encodes a protein
 related to the alpha subunit of eukaryotic
 initiation factor 2B (eIF2Balpha). *J Exp*
Bot. 51:2001-2007.
- Yan X, Liao H, Trull MC, Beebe SE, Lynch JP
 (2001) Induction of a major leaf acid
 phosphatase does not confer adaptation to low
 phosphorus availability in common bean. *Plant*
Physiol. 125:1901-1911.
- Yokoyama R, Nishitani K (2000) Functional
 diversity of xyloglucan-related proteins
 and its implications in the cell wall dynamics
 in plants. *Plant Biol.* 2:598-604
- Yokoyama R, Nishitani K (2001) A comprehensive
 expression analysis of all members of a gene
 family encoding cell-wall enzymes allowed us
 to predict cis-regulatory regions involved in
 cell-wall construction in specific organs of
Arabidopsis. *Plant Cell Physiol.* 42: 1025-
 1033.
- Yu B, C, Xu C, Benning C (2002) *Arabidopsis*
 disrupted in *SQD2* encoding sulfolipid
 synthase is impaired in phosphate-limited
 growth. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 99: 5732-
 5737.
- Zhou Y, Zhou C, Ye L, Dong J, Xu H, Cai L, Zhang
 L, Wei L (2003) Database and analyses of known
 alternatively spliced genes in plants.
Genomics. 82: 584-595.

関 係 論 文

Hanano S, Amagai M, Kaneko T, Kuwata C, Tsugane T, Sakurai N, Nakamura Y, Shibata D, Tabata S. (2002) Analysis of gene expression in *Arabidopsis thaliana* by array hybridization with genomic DNA fragments aligned along chromosomal regions. *Plant J.* 30:247-55.

(H.S and M.A , equally contributed)

Amagai M, Tohru Ariizumi, Makoto Endo, Katsunori Hatakeyama, Chikara Kuwata, Daisuke Shibata, Kinya Toriyama, Masao Watanabe (2003) Identification of anther- specific genes in a cruciferous model plant, *Arabidopsis thaliana*, by using a combination of *Arabidopsis* macro- array and mRNA derived from *Brassica oleracea*. *Sex Plant Reprod.* 15:213-220.

(M.A,T.A and M.E , equally contributed)

略 語

AAT :ATP/ADP translocator
ATP :adenosin triphosphate
AGI :The *Arabidopsis* Genome Initiative
cDNA :complementary DNA
Col:Colombia
DAPI:4,6-Diamidino-2-phenyl indole
DART:Database for Arabidopsis Research and Tools
EDTA :ethylenediaminetetraacetic acid
e-QTL :expressed QTL
EST :expression sequence tag
GPT:glucose-6-phosphate /phosphate translocator
LHCP:light-harvesting chlorophyll a/b pigment-protein complex
LSD:least significant difference
LSU:RuBisCO large subunit
 β -ME: β -mercaptoethanol
MIPS Munich Information Center for Protein Sequences
mRNA: messenger RNA
MS:Murashige and Skoog
OAA: oxaloacetic acid
NCBI:National Center for Biotechnology Information
PAGE:polyacrylamide gel electrophoresis
PCR:polymerase chain reaction
PEP: phosphoenolpyruvate
PK:pyruvate kinase
PEPCase:phosphoenolpyruvate carboxylase
PMSF: phenylmethanesulfonylfluoride
PORC: protochlorophyllide oxidoreductase type C
PPT: phosphate / phosphor enolpyruvate translocator
PVDF:polyvinyliden fluoride
QTL:quantitative trait loci
RIL: recombinant inbred line
RSV :relative signal value
RT-PCR: reverse transcriptase-PCR
SASSC:Sendai Arabidopsis Seed Stock Center

SDS:sodium dodecyl sulfate

SOM: self organized map

SSC: saline-citrate buffer

SQD:sulfoquinovosyldiacylglycerol

TIGR:The Institute for Genomic Research

TPT: phosphate/triose-phosphate translocator

UTR:untranslated region

XPT: phosphate/xylose5-P translocator

編集責任者 洪 江 修
編集委員長 高 野 邦 治
〃 委員 岩 崎 秀 穂
 山 口 正 篤
 室 井 栄 一
 小 林 俊 一
 伊 藤 良 治
 和 田 悦 郎
 木 村 栄

栃木県農業試験場 研究報告 第56号

平成18年2月24日 印刷

平成18年2月28日 発行

編 集 栃木県農業試験場
発行者 宇都宮市瓦谷町1,080番地
TEL 028-665-1241 (代表)
FAX 028-665-1759
E-mail nougyou-s@pref.tochigi.jp

印刷所 新日本印刷株式会社
 宇都宮市新町1-7-3
 TEL 028-638-6807
