

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 小 口 慶 子

高等生物の染色体末端に存在するテロメア繰り返し配列は細胞分裂の度に短縮し、限界の長さに達した時点で細胞は分裂の寿命を迎える。しかしながら、テロメア配列を伸長付加するテロメラーゼが発現した場合には、細胞は増殖を続けることが可能となる。ヒトなどの高等動物では、細胞の不死化や癌化との関連から多くの研究がなされている。これに対し、個体の形成や発生分化、生殖細胞系統の維持など多くの点で高等動物と異なる高等植物におけるテロメラーゼに関する研究はほとんどなされていない。本研究はシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*)、及びイネ (*Oryza sativa*) からのテロメラーゼ遺伝子の単離と塩基配列解析と発現解析を行った結果について述べたものである。

序章では、直鎖状染色体における末端問題とテロメア、老化・不死化とテロメア維持機構、テロメラーゼの特性等についてのこれまでの知見を総括している。第1章では、双子葉植物のシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) 及び単子葉植物のイネ (*Oryza sativa*) からのテロメラーゼ触媒サブユニット (*TERT*) 相同遺伝子の単離と構造解析について述べている。テロメラーゼは、逆転写酵素の一種である TERT (telomerase reverse transcriptase) が内在する RNA を鋳型として伸長付加反応を行う。いずれの遺伝子も高等植物からは単離されていなかった。ヒトの TERT 配列を元に、データベース上で相同配列を検索した結果、genomic BAC end sequence より約 600 bp の相同性の高い配列を見いだした。この配列を元に特異的なプローブを作成し、シロイヌナズナの培養細胞から調製した cDNA ライブラリーに対してスクリーニングを行うことにより、1124 アミノ酸の蛋白質をコードするオープンリーディングフレーム (orf) が見出され、これを *AtTERT* と命名した。高等植物の *TERT* 遺伝子の単離は世界で初めてである。この配列を元にイネについても同様の解析とスクリーニングを行い、最長 1260 アミノ酸をコードする orf を得て、*OsTERT* と命名した。*AtTERT* 及び *OsTERT* 遺伝子産物の分子サイズと pI は、それぞれ 131 kDa, pI 9.9 : 143 kDa, pI 9.6 であり、既知の TERT と類似の値を示した。また、いずれも逆転写酵素の特徴的なモチーフ群と TERT ファミリー特異的なモチーフの全てを保存していた。系統解析の結果、これまでに知られている TERT は、酵母、原生動物、高等動植物の 3 つのグループに分類されることが分かった。

第二章では、シロイヌナズナ及びイネにおける *TERT* 遺伝子の発現とテロメラーゼ活性について解析した結果を述べている。ヒトやマウスではテロメラーゼ活性が主として *TERT* 遺伝子の転写量に依存することが報告されている。シロイヌナズナの各組織を用い、TRAP (telomeric repeat amplification

protocol) 法によりテロメラーゼ活性を測定するとともに、RT-PCR 法により *AtTERT* 遺伝子の転写産物を定量した。分裂の活発な培養細胞と茎頂分裂組織では、比較的高いテロメラーゼ活性と *AtTERT* 遺伝子の転写産物が検出された。一方、分化した組織であるロゼット葉からはテロメラーゼ活性は検出されず当該転写産物も見いだされなかった。シロイヌナズナのテロメラーゼ活性は、主として *AtTERT* 遺伝子の転写制御によって調節されていることが示唆された。*in situ* ハイブリダイゼーションによって分裂組織における発現局在の解析を行った結果、茎頂分裂組織の中でも特に表層部位に強いシグナルが認められた。また、イネにおいても分裂組織において高いテロメラーゼ活性が観察された。*OsTERT* 遺伝子の転写産物は少なくとも5種類存在し、単なる転写制御ではなく、スプライシングによる調節が考えられた。シロイヌナズナとイネにおける *TERT* 遺伝子の転写の様相が異なることは、双子葉植物と単子葉植物における発現調節機構の差異を示していることも考えられ、興味深い。

終章は総合討論である。

以上要するに本論文は、シロイヌナズナ及びイネより、高等植物で初めて *TERT* 遺伝子を単離し、塩基配列の決定を行うとともに発現調節について解析を行ったものであり、学術上、応用上寄与するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。