

論文審査の結果の要旨

氏名 高橋真哉

本論文は2章からなり、第1章ではシクロブタン型ピリミジン二量体光回復酵素遺伝子のキュウリからの単離と挙動、第2章では光回復酵素遺伝子の光による誘導の波長依存性について述べられている。

成層圏オゾン層が破壊された結果、地上に到達する紫外線 UV-B が増加し、植物に様々な悪影響を与えると考えられている。実際、UV-B 照射により植物の DNA が損傷を受け、成長速度が低下することが報告されている。UV-B による DNA 損傷として生物体内に主にシクロブタン型ピリミジン二量体 (CPD) が生成するが、生物はこれを修復する仕組みをもっている。植物では光による修復が大部分を占めており、この反応を触媒する光回復酵素 (CPD photolyase) の存在が示唆され、シロイヌナズナからその遺伝子が単離されている。しかし、他の植物種からの遺伝子の単離は成功しておらず、photolyase の詳細な研究は行われていなかった。本論文では、UV-B 影響の生理学的研究が行われているキュウリ実生を用いて、photolyase の発現と植物の UV-B 抵抗性との関係を明らかにすることを目的に、photolyase 遺伝子を単離し、その発現の特徴について調べられた。

第1章では、キュウリの葉から高等生物に存在していることが知られている type II の photolyase をコードしていると思われる cDNA (*CsPHR* と名付けた) の単離とその性質について述べられている。単離した cDNA はアミノ酸レベルでシロイヌナズナと 75% の同一性を示した。また、この cDNA を photolyase を欠損した大腸菌に導入して、殺菌等による UV 照射後の生存率を測定したところ、UV 照射後に可視光を照射した場合に生存率が回復した、すなわち、photolyase 活性が回復したことが示された。このことは *CsPHR* が photolyase としての機能を持っていることを示している。次に *CsPHR* の転写産物量を比較した。転写産物量は若い葉で多く、葉令が進むとともに急速に減少した。このことは細胞分裂が活発な時期、成長速度が高い時期に特に photolyase が重要であることを示唆している。1日の周期の中における *CsPHR* の転写産物量を比較すると、午前中の9時～12時に高く、また、植物葉の光回復活性は12時～15時に高いことが示された。そこで、UV-B を照射する時間帯を変えて、UV-B による葉の成長阻害を比較すると、9時～12時、12時～15時に照射した時にはほとんど成長阻害が起こらず、早朝あるいは夕

方に照射した時には成長阻害が見られることが分かり、**photolyase** 活性が UV-B 抵抗性を支配している可能性が示された。

第 2 章では、光による **photolyase** の発現誘導について述べている。明期（6 時から 18 時）中、可視光と同時に UV-B を照射し続けたところ、朝の 9 時にのみ *CsPHR* 転写産物量の増加が見られた。この UV-B による増加の波長依存性を調べるために、基礎生物学研究所の大型スペクトログラフを用いて光による誘導の作用スペクトルを作製した。転写産物量の増加は 300nm にピークがあり、それよりも短波長側、長波長側では光による増加は減少した。**photolyase** の UV-B による誘導の光受容体として、DNA あるいは特異的な UV-B 光受容体が考えられる。前者の例として DNA 損傷（CPD 量）とアントシアニンの生合成との平行関係が報告されている。後者を想定できる例として UV-B による気孔開口が報告されている。本研究では、300nm よりも 290nm の方が CPD 生成量が多いことが示され、**photolyase** の誘導には DNA 損傷よりも、特異的な UV-B 光受容体が関わっている可能性が高いことが示唆された。

これらの結果は、**photolyase** は植物の紫外線抵抗性に深く関わっており、太陽光中の紫外線強度が高いときに活性が高くなるように巧みに活性制御されていることを示唆している。

なお、本論文の第 1 章は、中嶋信美、佐治光、近藤矩朗との共同研究、第 2 章は、中嶋信美、近藤矩朗との共同研究であるが、いずれも論文提出者が主体となって研究計画を策定し、実験を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。