

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 中里 恵美

原始らん藻が別の真核細胞に内部共生したことに起源をもつ植物細胞特有のオルガネラである色素体(葉緑体)は、自身のゲノム DNA と原核生物型の複製・転写・翻訳等の遺伝システムを持つ。植物細胞は、核と2つのオルガネラ(色素体、ミトコンドリア)のそれぞれに遺伝情報をもつ複合ゲノム系を形成している。一方、大腸菌の RecA タンパク質は複製や修復に関わる重要な機能をもつことが明らかにされており、RecA ホモログは原核生物から真核生物まで広く保存されている。

本研究は、単細胞緑藻 *Chlamydomonas reinhardtii* における葉緑体 RecA ホモログをコードする核遺伝子(*CrRecA*)の単離と塩基配列の決定、遺伝子産物の系統解析、葉緑体への局在化、遺伝子の発現誘導、葉緑体シグナルについての解析することによりゲノム間クロストークの解明を目指したものであり、序章の他、3つの章よりなる。

序章では、植物細胞における色素体(葉緑体)と共生進化、色素体の分化、核と葉緑体とのクロストーク、RecA タンパク質の構造と機能、単細胞緑藻クラミドモナスについての研究の現状を述べている。

第一章は、クラミドモナスにおける *recA* 相同遺伝子(*CrRecA*)の単離・同定と塩基配列の決定、分子系統解析、GFP 融合タンパク質を用いた *CrRecA* 遺伝子産物の局在化等の解析を行った結果について述べている。かずさ DNA 研究所のクラミドモナスデータベースを検索し、*recA* の相同遺伝子と考えられるクローン(CM055g08-r)を得た。塩基配列を決定した結果、414 アミノ酸をコードする ORF が見いだされ、N 末端側には Ser/Thr に富む葉緑体移行シグナル(トランジットペプチド)と考えられる配列が認められた。また、残りの配列は、ATP/GTP 結合モチーフ(p-loop)を持つほか、他の生物の RecA ホモログと保存性の高い領域を共有することが確認された。更に、タバコ葉においてトランジットペプチドと GFP (Green Fluorescence Protein) との融合タンパク質(*CrRecA*-GFP)を一過的に発現させ、共焦点レーザー顕微鏡を用いて GFP 蛍光とクロロフィル自家蛍光との細胞内局在を調べた。その結果、葉緑体への局在化が確認された。

第二章では、*CrRecA* 遺伝子の発現制御と葉緑体シグナルについての解析を行った結果について述べている。まず、Bleomycin と MMS (methylmethanesulfonate)の2つの DNA 損傷剤処理によって *CrRecA* 遺伝子の転写レベルにおける発現誘導が起こることを確認した。また、光化学系 I の上部から電子 1 個を受け取ってフリーラジカルとなり、活性酸素を生じる光要求性の除草剤 Paraquat (メチルピオロゲン)はクラミドモナス菌の脱色・死滅を引き起こす。Paraquat 処理したクラミドモナス菌では短時間に *CrRecA* 遺伝子の転写発現の誘導が起こることが明らかにされた。一方、Paraquat 処理時には短時間に細胞質 APX (Ascorbate peroxidase)の強い発現誘導が認められた。これらの結果は、活性酸素が

葉緑体 DNA に損傷を与えるとともに *CrRecA* 遺伝子の発現誘導のトリガーとなっていることを示唆している。更に、葉緑体から核への情報伝達を担っている物質（プラスチドシグナル）について検討を行った。

第三章は総合討論である。

以上要するに本論文は、単細胞緑藻クラミドモナスより葉緑体で機能する *recA* ホモログ遺伝子 (*CrRecA*) を同定・塩基配列の決定を行うとともに発現調節と葉緑体シグナルについて解析を行ったものであり、学術上、応用上寄与することが少なくない。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。