

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 永島 明知

光合成を行う細胞内小器官(オルガネラ)として知られ、植物細胞の特性の多くを担っている葉緑体は、独自のゲノムと遺伝子発現系をもっている。葉緑体の構造や機能は植物個体の組織や器官の分化に対応し、あるいは光その他の環境変化に速やかに応答してダイナミックに変化する。植物の光合成装置である葉緑体は、同じ酸素発生型の光合成を行う真正細菌シアノバクテリア(らん藻、*cyanobacteria*)がかつて別の真核細胞内に共生したことに起源を持つとされている。実際、葉緑体ゲノムに含まれる遺伝子群の構成、構造、機能はシアノバクテリアに極めて良く似ており、そこでは基本的に真正細菌型の転写、翻訳装置が働いている。本研究は、シロイヌナズナ(*Arabidopsis thaliana*)を材料として核と葉緑体ゲノムからなる複合ゲノム系における葉緑体分化・発達の過程及び環境ストレス応答時における葉緑体におけるシグマ因子の関与について解析した結果をまとめたものであり、5章よりなる。

第一章は、研究の背景について述べており、葉緑体における環境応答、遺伝子発現の転写、転写後、翻訳レベルにおける制御機構などについて今まで知られている知見を整理している。近年、シロイヌナズナの葉緑体では NEP と PEP と呼ばれる2つの転写系が動いており、PEP の構成成分として SIG1~SIG6 の 6 個核遺伝子の存在が明らかにされている。第二章では、核遺伝子 SIG2 を T-DNA 挿入によって破壊した株(*sig2-1*)と親株(野生株)の芽生え期における葉緑体ゲノム遺伝子群の発現を特製のマイクロアレイを用いて解析した結果について述べている。このマイクロアレイは、葉緑体ゲノム上の全ての蛋白質コード遺伝子(79 遺伝子)と核コードの CAB, RBCS、及び対照としてアクチン遺伝子(ACT2)、 λ ファージの Q 遺伝子を解析対象としたものである。生育 7 日目の野生株と *sig2-1* 株の全 RNA を蛍光色素 Cy3 および Cy5 で標識し、発現量の比較を行った結果、79 遺伝子のうち 47 個について 1.5 倍以上の上昇が認められた。一方、光化学系 I の構成蛋白質の遺伝子の一つである *psaJ* については転写発現量の減少が認められた。*psaJ* 遺伝子の mRNA を S1 マッピングによって調べたところプロモーター領域に真正細菌のコンセンサスプロモーター配列と類似の -35, -10 エレメントを見いだした。マイクロアレイによる転写発現の結果はノーザン解析によって確認された。第三章は、6 個の核コードシグマ因子遺伝子のうち SIG5 遺伝子が塩、強光、低温、酸化などのストレス処理後 1~2 時間内に転写発現量が増大することを述べている。このようなストレス応答には光の存在は必ずしも必須ではない。SIG5 遺伝子のプロモーターに *uid* 遺伝子を融合した系を用いて調べた結果、SIG5 の発現は比較的古い葉で強く認められたが、ストレス応答下では若い葉でも強い発現が認められた。これらのことは SIG5 がマルチストレス誘導型のシグマ因子であることを示して

いる。第四章では、光形態形成変異(*det, cop*)、光受容体変異(*phy, cry, hy*)、プラスチドシグナル変異(*gun*)による *SIG5* を介したストレス応答への影響について解析した結果を述べている。また、*SIG5* の T-DNA 挿入破壊株(*sig5-1*)の取得とこの株を用いて *SIG5* 標的遺伝子の解析を行った結果、BLRP (blue light response promoter)からの発現に *SIG5* が関与していることが示唆された。第五章は、総合討論である。

以上要するに本論文は、マイクロアレイ解析により核コードのシグマ因子の一つ *SIG2* の標的プロモーターとして *psaJ* を発見するとともに、別の *SIG5* がマルチストレス誘導型のシグマ因子であることを明らかにしたものであり、学術上、応用上寄与することが少ない。よって審査員一同は、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。