

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 華岡 光正

葉緑体は自身のゲノムと遺伝情報発現系をもち、光合成を行う植物特有のオルガネラである。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、ここでは基本的に真正細菌型の複製、転写、翻訳装置が働いている。しかしながら、多くの遺伝子は核ゲノムへと移行しており、葉緑体ゲノムにおける遺伝子発現調節や葉緑体ゲノムと核ゲノム間の遺伝子発現の協調機構についてはほとんど明らかにされていない。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に際した転写システムの変換と転写制御機構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。

第一章では、葉緑体を含めた色素体(plastid)の分化、ゲノムと遺伝子系についての知見をまとめ、特に葉緑体における2つの転写装置、核コードのT7フェージタイプのRNAポリメラーゼNEPとその遺伝子(*RpoT*)、及び葉緑体ゲノムによってコア酵素部分がコードされているPEPとPEPにプロモーター特異性を付与する核コードのシグマ因子群(*SIG1~SIG6*)についての最新の知見について述べている。第二章では、*SIG2*のT-DNA挿入破壊株(*sig2-1*)について光合成遺伝子群とtRNA遺伝子群についてノーザン解析、S1マッピング解析を行った結果を述べている。*sig2-1*株では、NEPによって転写される遺伝子群を中心として多くの葉緑体遺伝子について転写の上昇が認められた。一方、*psbD*プロモーターの一つ(*psbD-256*)、*psaJ*、*trnE*、*trnV*プロモーターなどの転写は顕著に低下しており、これらのプロモーターが*SIG2*依存性であることが明らかとなった。さらに、これらのプロモーター領域に真正細菌型-35、-10エレメントと*SIG2*特有のA(A/T)TTA配列の存在することを明らかにした。第三章では色素体の分化・発達に伴うtRNA^{Glu}を介したNEP活性の抑制機構について述べている。高等植物の葉緑体ではPEPの他に核コードのT7タイプのシングルペプチドからなるNEPが葉緑体ゲノムの転写に関わっていることが知られている。通常、葉緑体の遺伝システムの転写に関わるNEP活性は芽生えの発達初期に高くPEPの活性上昇とともに低下する。これらの分子機構を明らかにするために培養細胞の色素体より*in vitro*転写系を作成し、NEPによる*accD*プロモーターからの転写を解析する系を確立した。この転写系に*SIG2*依存性の示されている葉緑体tRNA遺伝子からの転写物を添加した結果、tRNA^{Glu}が特異的にNEPによる転写を抑制することを発見した。このことは*SIG2*によって特異的に転写されるtRNA遺伝子の産物の一つであるtRNA^{Glu}がNEPに

よる転写を抑制していることを示している。第四章では、リボソーム蛋白質 L32 様蛋白質による葉緑体遺伝子の転写制御について述べている。酵母の two hybrid 系を用いて RpoT3 蛋白質(NEP)と特異的に相互作用する蛋白質をスクリーニングした結果、N 末端側と強く結合するクローンを見だし、リボソーム L31 様蛋白質であると同定した。L31 様蛋白質は *accD* プロモーターに特異的に結合すると共に、*in vitro* 転写系に添加すると NEP による転写を活性化することが明らかとなった。このことは L31 様蛋白質が色素体中で NEP 特異的な転写の調節因子として機能していることを示唆している。第五章は総合討論である。

以上要するに本論文は、今まで不明であった高等植物葉緑体分化過程における NEP と PEP の2つの転写システムの変換と転写制御系について新たな知見を得たものであり、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。