

論文審査の結果の要旨

氏名 小原 圭介

本論文は 3 章からなり、第 1 章では、シロイヌナズナのモノデヒドロアスコルビン酸還元酵素 (MDAR) が、一つの遺伝子からミトコンドリア型と色素体型を合成して送り分けるという現象 (二重移行) とその機構について、第 2 章では、ミトコンドリア型と色素体型の mRNA 蓄積量の解析について、第 3 章では、MDAR の両オルガネラへ二重移行の一般性についてイネの MDAR を用いた解析について述べられている。

ミトコンドリアと色素体は、オルガネラ遺伝子の転写や翻訳、また活性酸素の除去など共通した機能を一部で有している。従って、両方のオルガネラで同じ機能を持つタンパク質が存在する。多くの場合、それらは核ゲノム中の別々の遺伝子にコードされ、別々に転写・翻訳を受けている。しかし、一つの遺伝子由来のタンパク質が、両方のオルガネラに移行する二重移行という現象が、現在までに 20 例以上報告されており、タンパク質の供給に関して、ある部分では核が両オルガネラを一括して制御する仕組みを獲得してきたと考えられる。これまでに報告されている二重移行の例のうち、ほとんどは、合成される 1 種類のタンパク質が両方へ移行するという翻訳後の仕組みによるものであり、残りの例も 1 種類の mRNA が翻訳調節により 2 種のタンパク質を作り出し、二重移行が行われている。しかし、これら二重移行機構の知見は、断片的であり、未知の機構の発見や個々の機構の詳細な解析が求められていた。そこで、論文提出者は、博士課程において、両オルガネラで働くと思われる MDAR をモデルとし二重移行機構の詳細な解析を行った。

第 1 章では、シロイヌナズナの MDAR 遺伝子が、一つの遺伝子から転写開始点を使い分けて、2 種類の mRNA を作り分けていることを明らかにした。蛍光タンパク質 (GFP) と MDAR のタンパク質あるいは N 末ペプチドの融合遺伝子を用いた遺伝子導入実験から、それぞれの mRNA がコードする長短のタンパク質のうち、長い方がミトコンドリア、短い方が色素体へと移行することを明らかにした。これらの結果から、シロイヌナズナ MDAR タンパク質は、転写開始点の使い分けによって、ミトコンドリアと色素体へと二重移行すること

が明らかとなった。このことにより、転写レベルでの制御を用いてミトコンドリアと色素体へ二重移行を行うという、新規の機構が明らかとなった。

第 2 章では、ミトコンドリア型、および色素体型 MDAR をコードする mRNA の蓄積量を調べるために、RT-PCR-Southern 解析を行い、両 mRNA の蓄積量の比を求めた。その結果、植物体の各器官では、花においてミトコンドリア型の相対量が多く、根においては色素体型の相対量が多いことを明らかにした。また、発芽後の光環境は、両 mRNA 蓄積量の比に大きな影響を与えなかった。葉緑体で活性酸素を生じさせる除草剤パラコート（メチルビオローゲン）での処理や、分裂活性の違いなどでも大きな差は見られなかった。これらのことから、両 mRNA 蓄積量の比は、環境要因というよりも器官ごとに制御されていることを示唆した。

第 3 章では、このような MDAR の二重移行という現象や機構が、他の植物種でも保存されているかどうかをイネの MDAR を用いて検証した。まず、シロイヌナズナで得た結果を利用して、イネの色素体型と思われる MDAR 遺伝子から、さらに上流にコード領域を延長した新たな読み枠を 2 つ組むことに成功し、RT-PCR 法により、これら 3 つの読み枠の全てが、*in vivo* において実際に発現していることを明らかにした。このことにより、イネにおいても、オルガネラ型と思われる 1 つの MDAR 遺伝子から複数種の mRNA を作り分けていることが明らかとなった。しかし、複数種の mRNA はシロイヌナズナの場合とは異なり、スプライシング受容部位を使い分けることにより作り分けられていた。次に、それぞれのシグナル配列部分と GFP を融合したタンパク質の細胞内移行解析から、長い 2 つがミトコンドリア、短い 1 つが色素体へ移行することを明らかにした。これらの結果は、MDAR タンパク質の二重移行という現象がシロイヌナズナとイネで保存されていることを強く示唆する重要な知見である。

なお、本論文第 1 章は、鷲見和良氏および福田裕穂氏と、第 2 章と 3 章は、福田裕穂氏との共同研究であるが、論文提出者が主体となって解析を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

ここに得られた結果の多くは新知見であり、いずれもこの分野の研究の進展に重要な示唆を与えるものであり、かつ本人が自立して研究活動を行うのに十分な高度の研究能力と学識を有することを示すものである。よって、小原圭介提出の論文は博士（理学）の学位論文として合格と認める。