

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 上田実

細胞内共生によって誕生したミトコンドリアと葉緑体（オルガネラ）は、共生以降にオルガネラゲノム上の遺伝子を核ゲノムへ転移（遺伝子転移）したが、もしくは消失したものと考えられている。オルガネラから核ゲノムへの遺伝子転移は、生命進化の過程において興味深い現象のうちの一つであるが、その詳細については未だ謎が多い。

高等植物オルガネラゲノムには多くの遺伝子が残存し、コードされている遺伝子が種間で多様である。つまり、高等植物のオルガネラから核ゲノムへの遺伝子転移は現在も活発に行われており、核ゲノムには遺伝子転移の形跡が数多く残されていることを示唆している。遺伝子転移成立の際は、プロモーター配列やもとのオルガネラへ輸送されるための移行シグナルを獲得する必要がある。本論文では、まずイネのミトコンドリアゲノムの核ゲノムへの大規模な移行が現在も進行中であることを示した上で、プロモーター配列および移行シグナルの獲得機構の解明を目指して行った研究の成果がまとめられている。

1. イネミトコンドリア *rpl27* のプロモーター配列獲得機構

ミトコンドリアの祖先と考えられている α -proteobacteria の一種、*Rickettsia prowazekii* ゲノムにコードされるリボソームタンパク質遺伝子についてイネ核ゲノム中に存在する相同遺伝子をイネゲノムや完全長 cDNA 情報を元に抽出した。このうち、8 番染色体上にコードされているミトコンドリアリボソーム大サブユニットを構成するタンパク質の遺伝子である *rpl27* について解析した。まず GFP を用いてこの遺伝子産物がミトコンドリアに局在することを確認した。そして、イネゲノム情報から *rpl27* のプロモーターは、かつて自身の遺伝子の下流に存在していた遺伝子である *Osspt16* (*Oryza sativa* yeast *spt16* homolog) のプロモーターを、4 番と 8 番染色体間での重複、8 番染色体内での縦列重複という二度の重複を経て獲得していたことが判明した。

2. ポプラ葉緑体 *rpl32* におけるエキソンシャッフリングによる移行シグナルの獲得

ポプラ(*Populus alba*)では *rpl32* が葉緑体ゲノムから消失していることが報告されている。そこで、NCBI EST 情報から核へ転移した *rpl32* を探索し、183 アミノ酸残基をコードする完全長 cDNA が得られた。GFP を用いてこの遺伝子産物の局在を観察したところ、葉緑体へ局在することが確認できたことから、この遺伝子が核へ転移した葉緑体 *rpl32* であることが強く示唆された。そして、転移後に葉緑体 *rpl32* が獲得した葉緑体移行シグナルに該当する配列と高い相同性を示す EST を探索したところ、葉緑体に局在する活性酸素消去酵素の一種 Cu-Zn superoxide dismutase (*sod-1*) をコードする EST が得られた。この結果から、ポプラ葉緑体 *rpl32* は遺伝子転移成立の際、葉緑体 *sod-1* の葉緑体移行シグナルを exon-shuffling により獲得することで葉緑体へのタンパク輸送を可能にしたことが判明した。つまり、既存の移行シグナルを利用することで遺伝子転移が成立した例を明らかにした。

3. フレームシフトによる葉緑体移行シグナルの成立

rpl27 の場合と同様、イネゲノム情報からミトコンドリア *rpl13* を抽出し、GFP を用いて実際にこの遺伝子産物が実際にミトコンドリアへ局在することを確認した。そして、ミトコンドリア *rpl13* の下流には、ミトコンドリア *rpl13* 自身の N 末端 60 アミノ酸残基部分の相同配列を C 末端に含む 160 アミノ酸残基をコードする遺伝子(*orf160*)が存在していた。この *orf160* についても翻訳産物の局在を解析したところ葉緑体に局在した。この *orf160* の葉緑体移行シグナル部分は *ppr564* の一部の配列が重複し、変異が蓄積しフレームシフトが起こったことにより誕生したことが判明した。今回の結果は、オルガネラから核への遺伝子転移成立のために必要な移行シグナルが、移行シグナルとして機能しない配列が重複や変異を経て移行シグナルとして誕生し得ることを示す興味深い現象である。

以上本論文は、オルガネラゲノムから核ゲノムへの遺伝子転移が成立するためのプロモーター配列の獲得機構およびオルガネラ移行シグナルの獲得機構を新たに示したものである。これらの成果は、遺伝子転移の成立に関する重要な知見を与えるとともに、オルガネラ工学の基礎となるものであり、学術上また応用上極めて価値あるものである。したがって、審査委員一同は本論文が博士（農学）に値するものと認めた。