

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 高師 義幸

本論文は8章からなる。第1章では序論として研究背景、研究目的に対して着想に至った経緯を、過去の事例や論文を例にとり説明している。申請者は真菌、動物等に比べ植物が環境ストレスによるDNA損傷に対して高い耐性を持っている事に着目し、耐性を付与している機構を解明し、より高い耐性をもった植物体作出の一助とする事を目的とし研究を行った。DNA修復機構などについて調べる過程で、DNA修復機構の制御因子と目される Replication Protein A (RPA) 複合体を構成する3つの因子(RPA70, RPA32, RPA14)が、植物ではそれぞれ重複している事を見いだした。申請者はこれらの因子の重複により多様な複合体が形成され、多機能化する事により、DNA損傷における高い耐性が得られているのではないかと仮説を立て、既知のRPAの機能などについて言及している。

第2章では、シロイヌナズナにおけるRPA構成因子の一次構造の比較、系統解析、そして複合体形成様式を明らかにした。ヒトにおけるRPAホモログなどとの一次構造の比較を行うと共に、真核生物におけるRPAホモログの系統樹を作製し、検証を行った。その結果、シロイヌナズナにおけるRPA70パラログは2つのグループに分類された。さらに、シロイヌナズナのRPAサブユニット間における結合性を解析した結果、シロイヌナズナにおけるRPAは多様な複合体を形成することを明らかにした。そして、系統解析が結合解析の結果を支持することなどを含めて論じている。

第3章は、シロイヌナズナにおけるRPA構成因子発現の器官特異性とDNA障害ストレスに対する発現応答性を解析している。シロイヌナズナにおけるRPA構成因子は、恒常的に発現しているものと、主に分裂組織を含む器官特異的に発現するものとの2種類が存在していることを明らかにした。さらに、RPA構成因子がDNA障害ストレスに対する発現応答性を示したことから、DNA修復機構に関与していることを推察している。

第4章は、シロイヌナズナにおけるRPA構成因子の細胞内局在性を解析している。その結果、シロイヌナズナにおけるRPA70パラログは核のみならず、ミトコンドリアにも局在していた。ミトコンドリアにRPA構成因子が局在するのは新規の現象であり、シロイヌナズナにおけるRPA複合体は他の真核生物とは異なる独自の機能を有する可能性があると言及している。

RPA複合体は、DNA修復機構やテロメア長の維持機構などに関与するため、それら機構に関与する因子郡と相互作用することが考えられる。そこで第5章では、シロイヌナズナにおけるDNA修復機構やテロメア長の維持機構などに関与する主な因子を取り上げ、RPA70パラログとの相互作用を検証している。その結果、RPA70パラログはDNA修復機構、DNA複製チェックポイント機構、テロメア長の維持機構に関与する因子と相互作用することが明らかになった。さらに、RPA70パラログ内で相互作用する因子が異なることか

ら、RPA70 パラログの機能的な差異について論じている。

第6章は、RPA70 パラログの DNA 障害応答及び DNA 複製チェックポイントにおける役割を明らかにするために、各種欠損株を用いた解析を行った。その結果、RPA70 パラログが DNA 修復機構、及び DNA 複製チェックポイントに必須な因子であることが判明し、RPA 複合体が DNA 損傷ストレスなどの応答機構において重要な役割を担うことを考察している。

第7章は、RPA70 パラログのテロメア長制御における役割を明らかにした章である。各種欠損株におけるテロメア長の解析から、RPA70 パラログはテロメア長の維持に必須な因子であることが示されている。さらに、テロメラーゼ欠損株を用いた解析から、テロメラーゼを介してテロメア長を維持していることを明らかにした。これらの解析から、RPA70 パラログのテロメア長の維持機構における役割の違いについて論じている。

第8章は、総合考察である。これまでの研究結果から、シロイヌナズナにおける RPA 複合体の機能について総合的に考察している。RPA 複合体はシロイヌナズナにおいて、多様な複合体形成様式を示すことから、申請者は、それらの機能について比較検討を行っている。さらに、複数の RPA 複合体がより複雑なストレス応答機構を構築することで、植物独自の高い耐性に寄与していると論じている。また、今後の研究課題については、RPA 構成因子の生化学的な解析の必要性などを指摘している。

以上のように、本論文はシロイヌナズナにおける RPA 遺伝子群について解析し、その動物とは異なる多型性について論じたものであり、植物における DNA の複製や維持機構を理解する上で重要な基礎情報を与えるものと認められる。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。