

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 手塚 武揚

放線菌 *Streptomyces griseus* は複雑な形態分化と多様な二次代謝産物生産を二大特徴とし、これらの現象は多数の遺伝子の複雑な発現制御機構により成り立っている。本論文では、原核生物において small non-coding RNA (sRNA) が果たす役割の重要性に着目し、放線菌 *S. griseus* が行う形態分化や二次代謝産物生産において機能する sRNA を見いだし、遺伝子発現制御因子としての機能を解析することを目的としている。本論文は全七章より構成される。

第一章では、原核生物における sRNA 発見の経緯と機能解析の進展について、これまでの知見をまとめている。sRNA はタンパク質に結合するものとメッセンジャーRNA (mRNA) に結合するものに大別され、mRNA に結合する sRNA はさらに cis 型と trans 型に分類されるが、本論文ではこれらすべてのタイプの sRNA を研究対象としている。

第二章では、*S. griseus* で発現している sRNA の同定とこれらの sRNA と形態分化および二次代謝との関連の解析について述べている。バイオインフォマティクス的手法による *in silico* 解析と転写解析を組み合わせて実験を行い、通常の培養条件で発現する 13 の sRNA を同定した。このうち 1 つは、遺伝子破壊株と過剰発現株を用いた解析から形態分化に関与する sRNA であることを示した。また、次世代シーケンサーを用いた転写産物の網羅的検出により、1,000 を超える遺伝子間領域から sRNA と推測される転写があることを明らかにした。

第三章では、sRNA の解析を行う過程で見いだされた転写減衰による遺伝子発現制御機構の解析について述べている。転写減衰にはリーダーペプチド型、リボスイッチ型、リボザイム型など複数のタイプが存在する。*S. griseus* では少なくとも 4 つの遺伝子 (*SGR2045*, *SGR3965*, *SGR6089*, *SGR6151*) が転写減衰により発現が制御されていることを示した。グリシン分解酵素遺伝子 *SGR2045* および *SGR6151* についての解析から、これらの遺伝子がグリシン結合性リボスイッチの制御下にあり、遺伝子産物がグリシンの資化に必須であることを明らかにした。

第四章では、sRNA の機能発現において RNA 結合タンパク質が必須の役割を果たしていることに注目し、RNA 結合能を持つと予想されるタンパク質の解析について述べている。解析を行った *SGR6054* は RNA 結合能を持たないものの、非特異的な DNA 結合能と RNA 分解活性を持つことを見いだした。立体構造をもとに作製した変異型タンパク質による *in vitro* 解析により活性に重要なアミノ酸を明らかにした。また、遺伝子破壊株を用いた解析から、このタンパク質が生育に重要な因子であることを示した。

第五章では、*S. griseus* 細胞抽出液から RNA 結合タンパク質を探索した解析について述べている。RNA 結合タンパク質を精製する過程で注目したタンパク質 EshA の機能解析を行い、*S. griseus* の生産する代表的な二次代謝産物であるストレプトマイシンの生産に EshA が関与することを示した。

第六章では、sRNA 同定の過程で行った次世代シーケンサーによる転写産物の網羅的検出の結果をもとに、*S. griseus* のトランスクリプトームの特徴に関する解析について述べている。液体培地と固体培地それぞれの培養条件における遺伝子の発現量、転写開始点、転写単位を高解像度で明らかにした。これらの情報は、*S. griseus* の遺伝子発現制御機構を解析する上で基盤となるものである。

第七章では、本論文で同定された sRNA の多様性と機能について考察し、放線菌における sRNA 研究の今後の展望を述べて本研究を総括している。

以上、本論文は放線菌 *S. griseus* より見いだされた sRNA に関する研究成果をまとめたものであり、学術上貢献するところが少なくない。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。