

氏名	しか ない とし はる 鹿 内 利 治
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学位記番号	論 農 博 第 1799 号
学位授与の日付	平 成 5 年 1 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	イネミトコンドリアに存在するプラスミド様 DNA の分子生物学的研究

論文調査委員 (主 査)
 教 授 山 田 康 之 教 授 大 山 莞 爾 教 授 駒 野 徹

論 文 内 容 の 要 旨

高等植物のミトコンドリアに存在するプラスミド様 DNA に関して、細胞質雄性不稔との関連について多くの研究がなされてきたが、その起源やミトコンドリア内での機能といった本質的な問題に関しては未解決のままであり、ミトコンドリアゲノムの進化を考える上でも解明が期待されている。本論文は、プラスミド様 DNA の中でも特に情報の乏しい環状 DNA について、その起源、機能に関する知見を得ることを目的とし、イネ細胞質雄性不稔株のミトコンドリアに存在するプラスミド様 DNA を詳細に解析した結果をまとめたものである。

著者は、イネ細胞質雄性不稔株 A-58 CMS のミトコンドリアより、B1, B2, B3, B4 の 4 つの環状プラスミド様 DNA を単離し、プラスミドベクターにクローン化を行っている。得られたクローンを用いて、プラスミド様 DNA がミトコンドリア主ゲノムと相同性をもたないこと、またプラスミド様 DNA を持たない日本稲のミトコンドリアはそれらの配列を全く欠くことを明らかにした。このことは、イネのプラスミド様 DNA が、トウモロコシの線状プラスミド様 S1, S2 で見られたようなエピソーム様の挙動を取らないことを示している。

ついで著者は、B1, B2, B3, B4 の一次構造の決定を行っている。4 つのプラスミド様 DNA には、B1 と B3 の間に短い相同配列が存在しただけで、配列上の類似性は見られなかった。しかしながら、コンピューターを用いたデータベースの検索によって、イネの 4 つのプラスミド様 DNA がトウモロコシの 2 つの環状プラスミド様 DNA と多くの相同配列を持つことが明らかになった。その結果に基づき両植物でのプラスミド様 DNA の進化について考察を行っている。

さらにイネのプラスミド様 DNA にタンパク質をコードする領域が存在するかどうか検討を行っている。イネのプラスミド様 DNA で検出される短いオープンリーディングフレームは、対応するトウモロコシの DNA では配列としては保存されているものの、読み枠としては保存されていない。このことからイネとトウモロコシの環状プラスミド様 DNA では、タンパク質をコードする遺伝子の存在は考えにくいと結論している。

本論文では続いてイネのプラスミド様 DNA に転写産物が存在することが示されており、それらが相同性を有するトウモロコシのプラスミド様 DNA の転写産物と共通性を持つことが明らかにされている。

イネのプラスミド様 DNA は、ミトコンドリア主ゲノムとの相同性を欠くが、核ゲノムに相同配列が存在することが明らかにされている。この相同配列は、細胞質雄性不稔株のみならず日本稲にも広く一般的に存在し、これらの配列が核置換前にすでに日本稲の核ゲノムに存在したことを確認している。そこで、日本稲フジノリを材料に、核ゲノムに存在する B 4 相同配列を詳細に解析している。フジノリの核ゲノムに B 4 相同領域が 4 箇所存在することを示し、そのうち 3 箇所をゲノムライブラリーよりクローン化し、一次構造の決定を行っている。さらに残る 1 領域についてもプローブを用いて解析を行っており、フジノリの核ゲノム内には B 4 の全配列を含む領域がないこと、また B 4 の配列内に核ゲノムに存在しない部分があることを示している。

さらに著者は B 2 相同配列についても同様な解析を行っており、B 4 相同配列の場合と同じような結果を得ている。このことから、核ゲノムに存在するプラスミド様 DNA 相同配列は、ミトコンドリアゲノムの配列が核ゲノムに転移した結果生じたものであると結論している。

論文審査の結果の要旨

高等植物のミトコンドリアゲノムの特殊性の一つとして、プラスミド様 DNA の存在を挙げることができる。しかしプラスミド様 DNA に対する興味の多くは細胞質雄性不稔との関連に関するものであり、その機能、起源といった問題に関する知見は乏しかった。

こうした背景のもと本研究は、イネ細胞質雄性不稔株 A-58CMS のミトコンドリアに存在するプラスミド様 DNA を材料に、特に研究の遅れていた環状のプラスミド様 DNA の機能、起源に関する知見を得ることを目的に行われた。著者はまず A-58CMS のミトコンドリアより 4 つの環状プラスミド様 DNA (B1, B2, B3, B4) を全てクローン化し、それらをプローブにミトコンドリア主ゲノムと相同性をもたないこと、および B1, B2, B3, B4 がトウモロコシの S1, S2 の様なエピソーム様の挙動をとらないことを示している。このことによって、プラスミド様 DNA と細胞質雄性不稔の関連を考えるうえでの S1, S2 の場合の特殊性を明確にしている。

次いで B1, B2, B3, B4 の一次構造の決定が行われており、それらがトウモロコシの 2 つの環状プラスミド様 DNA と数多くの保存配列を持つことが示されている。異なる植物種間において環状プラスミド様 DNA の一次構造の相同性が比較されたのは初めての例であり、このことによりプラスミド様 DNA の進化、機能を考察することが可能となった。著者は、イネとトウモロコシのプラスミド様 DNA 上での相同配列の分布から、両植物でのプラスミド様 DNA の進化を考察しており、単子葉植物のミトコンドリアに存在する環状プラスミド様 DNA が共通の祖先に由来する可能性を指摘している。さらに両植物のプラスミド様 DNA の配列の詳細な比較から、環状のプラスミド様 DNA 上にはタンパク質をコードする遺伝子が存在しないことを示しており、環状と線上のプラスミド様 DNA の違いを明確にしたものとして評価できる。さらにプラスミド様 DNA の機能を考えるうえで重要な情報として、B1, B2, B3, B4 に転写産物が存在することが示されている。

また著者は、B1, B2, B3, B4の興味深い特徴として、核ゲノムにその相同配列が存在することを見だしており、それらの一次構造の解析を行っている。ミトコンドリアのプラスミド様DNAが核ゲノムと相同性を持つという報告はあったが、その一次構造が明らかになったのは初めての例である。この解析により著者は、核ゲノムに存在するプラスミド様DNA相同配列は、ミトコンドリアから転移したものであることを結論しており、プラスミド様DNAの問題に留まらず、オルガネラ間の配列の転移という点でも興味深い知見と思われる。

以上のように本論文は、環状のプラスミド様DNAの起源、機能に関して、さらにはオルガネラ間の配列の転移という問題に重要な新知見を与えたものであり、植物分子生物学及び遺伝学の分野に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成4年10月15日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。