

氏名	よし だ ひで お 吉 田 秀 郎
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学位記番号	理 博 第 1543 号
学位授与の日付	平成 6 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専攻	理学研究科植物学専攻
学位論文題目	Molecular analysis of a new type of development-specific gene (<i>dutA</i>) of <i>Dictyostelium discoideum</i> (細胞性粘菌における新しいタイプの発生過程特異的遺伝子 <i>dutA</i> の 分子生物学的解析)
論文調査委員	(主 査) 教授 岩 淵 雅 樹 教授 藤 澤 久 雄 教授 辻 英 夫

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、細胞性粘菌 *Dictyostelium discoideum* の特定の発生段階で発現する遺伝子の中に、従来知られていない発現様式を示す遺伝子が存在することを発見し、その転写産物はタンパク質に翻訳されない新しいタイプの RNA であることを明らかにしたものである。

細胞性粘菌は、他の高等生物と同様その発生過程が細胞間の相互作用に著しく依存している。申請者は、細胞間相互作用の機構を分子レベルで明らかにすることを目的として、まず増殖期の細胞では発現せず、細胞が集塊を形成する時期から発現が始まり、集合の完了時期に最高値に達する発現様式を示す cDNA クローンを単離した。興味あることに、この遺伝子の発現が始まる直前に細胞の集塊を分散し、低密度で培養して細胞間の相互作用を妨害するとこの遺伝子の発現は停止するが、これに分化しつつある細胞からの培養液を与えると再び発現が誘導された。この事実は、細胞はこの遺伝子の発現を誘導するシグナル物質を分泌していることを示唆している。このようなシグナル物質として粘菌において多様な作用をもつ cAMP が考えられたが、cAMP のシグナル伝達系に異常をもたらす薬剤や変異株を用いた実験から、この遺伝子の発現誘導には cAMP は必要でないことが示された。したがって、この遺伝子は細胞の分泌する cAMP 以外の未知のシグナル物質によって発現が誘導される新しいタイプのものであると結論された。

このような未知のシグナル物質による遺伝子の発現制御機構を分子レベルで明らかにするため、まずこの遺伝子と cDNA の全塩基配列の決定を行った。その結果、この遺伝子の転写領域 (1322 nt) は A+T が 83% を占めるにかかわらず、イントロンとして除去される部分がなく、G と C はクラスターをなして点在すること、翻訳停止コドンが頻出するため通常の長さの ORF が取れないこと、等のきわめて特徴的な性格が明らかにされた。またこの遺伝子はミトコンドリアにはなく、核に存在するが、その転写産物は核に蓄積することなく、細胞質に輸送されていることもわかった。さらに通常の mRNA はリボソームと会合してポリソームを形成しているのに対し、この遺伝子の転写産物についてはそのようなことは見られなかった。以上のことから、本遺伝子はタンパク質に翻訳されることなく RNA のままで機能する新しい

タイプの遺伝子であることが明らかにされ、*dutA* (development-specific untranslatable) と名付けられた。

dutA の機能を探索するため、*overexpression*, *antisense mutagenesis*, *gene disruption* 等、種々の試みを行ったが、いずれの場合も表現型に異常はみられず、機能の特定にはいたらなかった。

一方、大腸菌・酵母をはじめとしてアラビドプシス・マウスにいたるまで非常に広い範囲の生物について *dutA* に類似の配列の存在することが PCR を用いた実験から示唆され、さらに酵母については *genomic Southern* 法によっても類似配列の存在が示された。

論文審査の結果の要旨

極めて単純な発生系をもつ細胞性粘菌においても、その発生過程は高等生物のそれと同じく細胞間の相互作用に強く依存している。申請者はこの生物を用い、発生における細胞間の相互作用機構を分子レベルで明らかにすることを目的として本研究を開始した。

この目的のために申請者が単離した cDNA クローンは、粘菌が発生開始後、多細胞体を形成すべく集合を開始する時期に初めて発現するものであった。しかもその発現は、粘菌細胞から分泌される cAMP 以外の未知のシグナル物質によって誘導されるものであった。細胞性粘菌において、発生に伴って発現が制御される遺伝子は、知られている限りすべて cAMP によって何らかの制御を受けることを考えると、本遺伝子の発現は極めて特色あるものといえることができる。

申請者はさらに、本遺伝子 (*dutA* と命名) が構造においても機能においても極めてユニークなものであることを明らかにした。*dutA* 遺伝子は転写領域 (1322 nt) の80%以上が A と T よりなる特異なものであるにもかかわらず、スプライスされることなく核から細胞質に移送されること、翻訳停止コドン頻出のため通常の長さの ORF は遺伝子上に取ることができないこと、また事実 *dutA* RNA はリボソームと複合体を形成しないままで細胞質に存在することなどである。他の生物において、ORF のない RNA でもエディティングによって ORF がつくりだされ翻訳される例が知られているが、広範なエディティングはすべて核外遺伝子にのみ見いだされることや (*dutA* は核遺伝子)、*dutA* に関連したエディト産物が全く見いだされないこと等を考慮すると、*dutA* はタンパク質に翻訳されないで役割を果す新しい種類の機能性 RNA である可能性が極めて大きい。

dutA のように A と T に富んだ核酸は、遺伝子操作中きわめて組みかえを起こし易く、かつ特殊な構造をとるため塩基配列の決定は著しく困難である。忍耐強い追求心と綿密な技法によってこのような困難を克服した申請者の卓越した研究推進力は高く評価されるものである。

申請者はまた、*dutA* に類似の配列が他の生物にも広く存在することを見いだしている。本研究においては *dutA* の機能の解明には至らなかったが、この遺伝子が粘菌発生の特定の段階に至ってはじめて発現することや、類似の配列が広く見いだされることは *dutA* の機能性 RNA としての新しい役割を示唆するものである。

さらに、*dutA* の発現が粘菌細胞から分泌される未知のシグナル物質によって誘導されるという事実は、細胞間相互作用の機構を分子レベルで解明する際、本遺伝子が極めて有用となることを示している。

以上のように、申請者の研究は発生する細胞間相互作用と新しい種類の RNA の理解に関して多大の貢

献をなした。

よって本論文は博士（理学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、主論文および参考論文に報告されている研究業績を中心とし、これに関連した研究分野について試問した結果、合格と認めた。