

氏名	濱田 仁 はま だ じん
学位の種類	農学博士
学位記番号	農博第292号
学位授与の日付	昭和54年1月23日
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当
研究科・専攻	農学研究科農林生物学専攻
学位論文題目	NATIVE AND IMPORTED tRNAs AND THEIR SYNTHETASES IN MITOCHONDRIA OF <i>TE- TRAHYMENA PYRIFORMIS</i> (テトラヒメナのミトコンドリアにおける固有及び移入 tRNA と その合成酵素) (主査) 教授 常脇恒一郎 教授 駒野 徹 教授 松下雪郎
論文調査委員	

論 文 内 容 の 要 旨

細胞質遺伝は真核生物の遺伝現象の重要な一部をなしており、ミトコンドリアや色素体のような細胞小器官に存在する遺伝子が関与している。しかし、細胞小器官の遺伝子がどのような分子的機構で細胞質遺伝をする形質を発現するかについてはまだほとんど分っていない。

本論文は、この機構の理解に資するために行った、ミトコンドリアと細胞質の tRNA 及びアミノアシル tRNA 合成酵素（以下、tRNA 合成酵素という）の比較研究の成果を3章に分けて取りまとめたものである。材料としては原生動物の *Tetrahymena pyriformis* を用いている。

第1章ではミトコンドリア中の tRNA の起源についての研究を取り扱っている。ミトコンドリア分画から得た alanine など13種類のアミノ酸を運搬する tRNA とミトコンドリア DNA との間で hybridization test を行ったところ、tyrosine など3種類のアミノ酸を運搬する tRNA はミトコンドリア DNA と hybrid を形成したが、alanine など10種類のアミノ酸に対応する tRNA は hybrid を形成しなかった。この結果から、前者はミトコンドリア遺伝子からつくられる“固有” tRNA であるのに対し、後者は核遺伝子によってつくられ、ミトコンドリアに運ばれてくる“移入” tRNA であることが分った。

また、逆相クロマトグラフ法により alanine など9種類のアミノ酸を運搬するミトコンドリア及び細胞質 tRNA の isoacceptor の分画を行ったところ、ミトコンドリアの移入 tRNA と細胞質 tRNA はよく似た分画像を示した。この事実もまた、移入 tRNA が核遺伝子の転写によってつくられることを示している。

第2章ではミトコンドリア中の tRNA 合成酵素に、固有及び移入 tRNA に対応する変異が存在するかどうかを研究した結果を取り扱っている。ミトコンドリア及び細胞質分画中の alanine など20種類のアミノ酸に対応する tRNA 合成酵素について、*E. coli* tRNA のアミノアシル化の効率、反応の至適温度、基質に対する親和性など9つの特性を比較研究した。ミトコンドリアの移入 tRNA 合成酵素は同一アミノ酸をチャージする細胞質中の tRNA 合成酵素とよく似た特性を示したが、ミトコンドリアの固有 tRNA

合成酵素はこれと同一のアミノ酸をチャージする細胞質中の tRNA 合成酵素に比し、その特性が明瞭に異なっていた。このことから、ミトコンドリアに見出される tRNA 合成酵素には固有及び移入 tRNA に対応する2つの型が存在することが分った。

第3章ではミトコンドリア中の上記2型の tRNA 合成酵素が核遺伝子及びミトコンドリア遺伝子の何れにコードされているかを明らかにするために行った研究を取り扱っている。ミトコンドリアでの転写及び翻訳のそれぞれを特異的に阻害する ethidium bromide 及び chloramphenicol で細胞を処理し、tRNA 合成酵素の産生に及ぼす影響を調べたところ、固有及び移入 tRNA の両者に対応する合成酵素の産生が何れも阻害を受けなかった。このことから、両型の tRNA 合成酵素はともに核遺伝子にコードされていることが分った。

論文審査の結果の要旨

細胞質遺伝は真核生物の遺伝現象の重要な一部をなしており、ミトコンドリアなど細胞小器官の遺伝子関与している。遺伝子の情報発現は機能の異なる RNA を転写によってつくることから始まるので、細胞質遺伝の機構を分子レベルで理解するには細胞小器官におけるこれら RNA の挙動を解明する必要がある。ミトコンドリアに関してはすでに、ミトコンドリア遺伝子の転写によってつくられる固有の tRNA が存在すること、及び一部の tRNA は核遺伝子によってつくられ、ミトコンドリアに運ばれる移入 tRNA であることが知られている。

本論文は、原生動物の1種 *Tetrahymena pyriformis* を用い、ミトコンドリア及び細胞質のそれぞれに存在する tRNA 及びアミノアシル tRNA 合成酵素（以下、tRNA 合成酵素という）の生化学的特性を研究し、それらの起源を解明したものである。

まず、ミトコンドリア DNA との hybridization test を行い、tyrosine など3種類のアミノ酸を運搬する tRNA はミトコンドリア遺伝子からつくられる固有 tRNA であり、alanine など10種類のアミノ酸の tRNA は核遺伝子にコードされる移入 tRNA であることを証明した。また、同一アミノ酸を運搬する移入 tRNA と細胞質 tRNA は互いに類似した isoacceptor をもつことを明らかにしている。

次いで、反応至適温度、基質親和性など9つの特性についてミトコンドリア及び細胞質の tRNA 合成酵素を比較し、同一アミノ酸をチャージする移入 tRNA と細胞質 tRNA の合成酵素はよく似ているが、固有 tRNA と細胞質 tRNA の合成酵素は互いに明瞭に異なっていること、従って、ミトコンドリアの tRNA 合成酵素には固有及び移入 tRNA に対応する2つの型が存在していることを証明した。

最後に、ミトコンドリアにおける転写及び翻訳の特異的阻害剤を用いてこれら両型の tRNA 合成酵素の産生の変化を調べ、両者が何れも核遺伝子にコードされていることを示した。

以上の結果から、*Tetrahymena* においてはミトコンドリア tRNA の多くは核遺伝子の支配下にあるが、その一部はミトコンドリア遺伝子の転写によってつくられること、及びミトコンドリア tRNA をアミノアシル化する酵素はすべて核遺伝子によってコードされていることが明らかになった。これらの成果は真核生物のミトコンドリア遺伝学の発展に寄与するばかりでなく、高等生物の細胞質遺伝の分子機構の理解に貢献するところが大きい。

よって、本論文は農学博士の学位論文として価値あるものと認める。