

氏名	こうちたかゆき 河内孝之
学位の種類	農学博士
学位記番号	農博第580号
学位授与の日付	平成元年3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	農学研究科農芸化学専攻
学位論文題目	GENE ORGANIZATION AND EXPRESSION OF THE CHLOROPLAST DNA FROM A LIVERWORT, <i>MAR-</i> <i>CHANTIA POLYMORPHA</i> (ゼニゴケ葉緑体 DNA の遺伝子構成と発現)
論文調査委員	(主査) 教授 駒野 徹 教授 山田康之 教授 浅田浩二

### 論 文 内 容 の 要 旨

光合成は植物が生命維持するための基本的な機能である。光合成の場である葉緑体には、遺伝子が存在し、独自の遺伝情報システムをもっている。本論文は、ゼニゴケ葉緑体 DNA について、その全塩基配列を決定して遺伝子構造の解析を行い、葉緑体の遺伝子容量を規定し、得られた知見に基づいて、オーバーラップ遺伝子の転写、二つのイントロンをもつ遺伝子の転写と RNA プロセシングの機序、さらにトランス位、シス位のイントロンをもつリボソームタンパク質遺伝子の転写とトランス-スプライシングの機構について述べたものである。

著者はまず、ゼニゴケ葉緑体 DNA の全塩基配列を決定し、特に逆位反復配列領域と小単一コピー領域の遺伝子の解析を行った。ゼニゴケ葉緑体 DNA は、121,025塩基対からなる閉環状 DNA 分子であり、その遺伝子構成は、主としてハウスキーピング遺伝子群、光合成遺伝子群からなるが、これまで報告されていない新たな遺伝子を発見している。すなわち、葉緑体で呼吸に伴う電子伝達系遺伝子群 (*ndh* 遺伝子)、光合成に関与する鉄硫黄タンパク質遺伝子群 (*frx* 遺伝子)、葉緑体における物質の膜透過に関与すると考えられる遺伝子群 (*mbp* 遺伝子) などである。

著者は光化学系Ⅱの P 680タンパク質などをコードする遺伝子群 (*psbB* オペロン) の逆鎖 DNA にオーバーラップして、アミノ酸43個からなるタンパク質をコードしている遺伝子が存在することをみいだした。さらに、*psbB* オペロンは単一の転写単位であること、及びオーバーラップ遺伝子が光誘導により転写されることを実証している。この事実は葉緑体遺伝子におけるオーバーラップ遺伝子の発現制御、すなわちアンチセンス RNA による遺伝子発現制御を示唆するものである。

葉緑体 DNA にコードされている20種の遺伝子には、イントロンが存在する。著者はこれらの中で二つのシス位のイントロンをもつ遺伝子に着目し、その転写、スプライシングを調べ、RNA プロセシングとイントロンのスプライシングは、一定の順序で起きていること、すなわち、遺伝子を単位とするプロセシ

ングが先に起こり、つづいてイントロンは上流域から順にスプライシングをうけていることを解明した。

さらに著者は、シス位とトランス位に二つのイントロンをもつリボソームタンパク質 S 12 遺伝子の転写、並びにスプライシングの機序を明らかにしている。すなわち、トランス位に分断されたりボソームタンパク質 S 12 遺伝子は、別々に転写された後、トランス-スプライシングをうけ、成熟 mRNA になる。この場合、この遺伝子のもう一つのシス位のイントロンのスプライシングとは独立して起きている。そこで著者は、トランス位のイントロンの二次構造モデルを組立てて考察し、トランス位に分断されたイントロンは、通常のシス位のイントロンと基本的に同じ構造をもつことを明らかにしている。

### 論文審査の結果の要旨

葉緑体における光合成に関する研究は、主として生理学的、生化学的手法で行なわれ、葉緑体遺伝子についての分子生物学的研究は、ある特定の遺伝子のクローニングや塩基配列の決定がなされているにすぎなかった。本論文は、葉緑体遺伝子の全構造を解明し、遺伝子の新しい発現、調節機構を明らかにした研究結果をとりまとめたもので、評価できる諸点は次の通りである。

1. ゼニゴケ葉緑体における独自の遺伝情報システムを解明するために、著者は葉緑体 DNA の全塩基配列を決定し、DNA は 121,025 塩基対からなり、遺伝子構成はハウスキーピング遺伝子群、電子伝達系遺伝子群、鉄硫黄タンパク質遺伝子群、及び膜透過性に関与するタンパク質遺伝子群からなることを明らかにした。

2. 光化学系 II の *psbB* オペロンの逆鎖 DNA にアミノ酸 43 個からなるタンパク質をコードしている遺伝子がオーバーラップして存在し、この遺伝子は光誘導により転写されることを明らかにした。この事実は、葉緑体の遺伝情報発現、制御に新しい機構が存在することを示唆している。

3. 複数のイントロンをもつ葉緑体 DNA の転写、プロセシング及びスプライシングについて詳細に解析し、mRNA のプロセシングとイントロンのスプライシングは一定の順序で行われていること、特に、プロセシングは遺伝子単位でまず起き、引き続きイントロンは上流域から順にスプライシングされることを明らかにした。

4. ゼニゴケ葉緑体 DNA でみいだされたトランス位のイントロンの二次構造モデルを組立て、トランス位のイントロンも、シス位のイントロンと同様の二次構造をもつことを実証した。

以上のように本論文は、ゼニゴケ葉緑体遺伝子の新しい遺伝情報システムを解析したもので、核酸生化学、植物分子生物学、並びに植物生理学の発展に寄与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。

なお、平成元年 2 月 25 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、農学博士の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。