

論文内容の要旨

申請者氏名 松 浦 秀 幸

植物は環境ストレスに適応し生存するためにストレス応答遺伝子発現制御機構を備えている。機構には転写段階と翻訳段階の制御があるが、前者に対して後者の研究はまだ少ない。翻訳制御は特に迅速な応答を示す点で重要である。

第1章では、高温ストレス下でシロイヌナズナの熱ショック遺伝子、*Hsp81-3* が選択的に翻訳されることに着目し、5' 非翻訳領域 (UTR) の役割を解析した。シロイヌナズナ細胞培養の温度を 22℃ から 37℃ に上げると 30 分後には大部分の mRNA は非ポリソーム画分に移行するが、*Hsp81-3* mRNA はポリソーム状態を維持した。*in vitro* 合成した mRNA をプロトプラストに導入する一過性発現系で 5' -UTR の構造と機能を解析した結果、113 塩基からなる 5' -UTR の 5' 側、47 塩基があればキャップ構造を除去しても高温下の翻訳が起こることが分かった。5' -UTR 内部の IRES (Internal Ribosome Entry Sequence) の寄与が想定されたが、mRNA の 5' 末端領域に人為的に ATG コドンをつけるとキャップの有無に関らず通常温度、高温下いずれも翻訳が阻害されることから、IRES からの翻訳開始は否定された。*Hsp81-3* の 5' -UTR 末端にはキャップ構造以外にリボソームを効率的にリクルートする構造があることが示唆された。

第2章では、シロイヌナズナ培養細胞の高温または塩ストレス下でもポリソームを形成している mRNA を網羅的にマイクロアレイ解析及び定量 RT-PCR で解析した。興味深いことに、高温または塩ストレス下でポリソーム形成が維持される機能集団 (類似の機能を有している mRNA 種の集団)、あるいは極端に阻害される機能集団も、二つのストレス間で多く一致していた。これは異なるストレスであるにも関わらず、高温及び塩ストレス下においては、同様の機構を介して大部分の mRNA の翻訳状態が制御されている可能性を示唆する。ストレス応答シグナル伝達経路の観点から、高温及び塩という異なるストレスに対する応答シグナルが、共に翻訳制御に関わる因子へと伝達される経路が存在している可能性が考えられる。一方、ストレス特異的な制御の存在も見出された。一つには、一方のストレスのみで平均的な挙動から外れた顕著な挙動を示す機能集団の存在である。加えて、*Hsp* ファミリーの場合には、集団としての挙動は同じであるが、個々の *Hsp* に関してはストレス特異的な選択的制御が翻訳段階でなされている可能性が見出された。この結果は、植物の環境ストレスに応答した翻訳制御が、ストレスの種類に関わらず共通なグローバルな制御と一部の遺伝子群に対するストレス特異的な制御を含む、これまで考えられている以上にダイナミックな制御である可能性を示唆している。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 松 浦 秀 幸

本論文は、シロイヌナズナの環境ストレスに応答した遺伝子発現制御機構を、研究がまだ少ない迅速な応答を示す翻訳制御について解析している。

- 1) シロイヌナズナの熱ショック遺伝子、*Hsp81-3* が高温ストレス下で選択的に翻訳されることに着目し、5' 非翻訳領域 (UTR) の役割を解析している。まず、シロイヌナズナ細胞培養の温度を 22℃ から 37℃ に上げると 30 分後には大部分の mRNA は非ポリソーム画分に移行するが、*Hsp81-3* mRNA はポリソーム状態を維持することを示している。
- 2) *in vitro* 合成した mRNA をプロトプラストに導入する一過性発現系で 5' -UTR の構造と機能を解析した結果、113 塩基からなる 5' -UTR の 5' 側、47 塩基があればキャップ構造を除去しても高温下の翻訳が起こることを示した。
- 3) mRNA の 5' 末端領域に人為的に ATG コドンをつけるとキャップの有無に関らず通常温度、高温下いずれも翻訳が阻害されることから、動物で示されている IRES (Internal Ribosome Entry Sequence) からの翻訳開始を否定している。また、*Hsp81-3* の 5' -UTR 末端にはキャップ構造以外にリボソームを効率的にリクルートする構造があることを示唆している。
- 4) DNA マイクロアレイおよび定量 RT-PCR 解析により、高温または塩の異なるストレス下で翻訳が起こるものと起こらないものを網羅的に解析し、ポリソーム形成が維持される機能集団(類似の機能を有している mRNA 種の集団)、と極端に阻害される機能集団が、二つのストレス間で多く一致することを示している。これは異なるストレスであるにも関わらず、同様の機構を介して大部分の mRNA の翻訳状態が制御されている可能性を示唆している。
- 5) 一方、片方のストレスのみで平均的な挙動から外れる機能集団も存在すること、*Hsp* ファミリーには、集団としての挙動は同じであるが、個々の *Hsp* にはストレス特異的な選択的制御が翻訳段階でなされている可能性を見出している。

以上の、本論文は植物の環境ストレスに応答した翻訳制御が、ストレスの種類に関わらず共通なグローバルな制御と一部の遺伝子群に対するストレス特異的な制御を含む、これまで考えられている以上にダイナミックな制御である可能性を示唆したもので、学術上、応用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 (バイオサイエンス) の学位論文として価値あるものと認めた。