

論文内容の要旨

申請者氏名 西村 健司

植物の緑葉可溶性タンパク質の約 5 割を占める程多量に存在する CO₂ 固定酵素 RuBisCO (Ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase) の合成メカニズムについての新たな知見を得るために、その蓄積量が減少したシロイヌナズナ *nara* (*the gene necessary for the achievement of RuBisCO accumulation*) 変異体のスクリーニングを行った。その結果、RuBisCO 量が大きく低下した突然変異体 *nara12* を単離した。マップベースクローニングの結果、*NARA12* 遺伝子座は DEAD-box ファミリータンパク質 RH39 をコードしていた。DEAD-box タンパク質は 2 本鎖 RNA や RNA 結合タンパク質を解離する酵素で、RNA 代謝において重要な役割を果たすことが知られている。また、その N 末端配列は葉緑体移行シグナルとして機能し、RH39 は葉緑体チラコイド膜に局在した。

変異体解析の結果、*nara12* は葉緑体ゲノムにコードされる 4 種類の rRNA のうち、23S rRNA のフラグメントパターンが野生株と異なっていた。23S rRNA は特定の部位で解裂する結果、ギャップを有する不連続な RNA 分子種として生成される。このような 23S rRNA に生じるギャップ構造は、一般に "hidden break" と呼ばれている。変異体のフラグメントパターンから、シロイヌナズナの 23S rRNA は 2 箇所 hidden break が導入され、RH39 はこのうち 3' 側のプロセシングサイトの切断に関わることを見出した。しかも、そのプロセシング異常により生じた前駆体 23S rRNA を有するリボソームは、正常なりボソームと共にポリソーム画分に多量に存在していた。このことから、変異体では異常な 23S rRNA を持つ未熟なりボソームが混在した状態で翻訳を行っていることが明らかとなった。

更なる解析から *nara12* 変異体は葉緑体ゲノムにコードされる多くのタンパク質の蓄積量が著しく減少していることが分かった。それらの mRNA 量、及び mRNA のポリソーム形成自体は野生株と同等であったが、その翻訳速度は著しく低下していた。このことから、プロセシング前の 23S rRNA を有するリボソームはプロセシングされた 23S rRNA を持つリボソームよりも翻訳効率が低い、すなわち hidden break の導入は葉緑体リボソームの効率的な翻訳伸長反応に重要な現象であることが分かった。

植物には葉緑体以外にも様々なプラスチドが存在する。興味深いことに、非緑色器官のプラスチドリボソームの組成は葉緑体のものと大きく異なっていた。特に暗所芽生えに見られるエチオプラスチドでは未成熟なりボソームが多くの割合を占めていた。このときの翻訳量は葉緑体に比べて非常に低いことが知られている。したがってプラスチドではそのタイプと翻訳量に応じて hidden break の導入パターンをダイナミックに変動させることで、翻訳効率の異なるプラスチドリボソームを編成していると考えられる。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 西村 健司

植物の葉緑体におけるタンパク質大量合成メカニズムはこれまでほとんど明らかにされていない。本論文では、葉緑体タンパク質の中でも最も大量に合成される光合成 CO₂ 固定酵素 RuBisCO を指標としたシロイヌナズナ変異株のスクリーニングから、葉緑体タンパク質大量合成に必須の新規遺伝子を発見した。同定した原因遺伝子 *NARA12* は、DEAD-box RNA helicase RH39 をコードしていたが、機能未知であった。これまで DEAD-box RNA helicase は最近注目を浴びている酵素であり、酵母などの研究により、RNA が関わる細胞内プロセスに広く関与することが報告されているが、植物においてタンパク質合成に関与していることをはじめ明らかにした。

詳細な解析の結果、*NARA12* は葉緑体リボソーム大サブユニットの 23S rRNA のプロセッシングに関与することが明らかになった。植物葉緑体 23S rRNA は hidden break が導入され、ギャップを有する不連続な RNA 分子種として生成される。この現象は古くから知られていたが、23S rRNA への hidden break 導入の生理学的意義は不明であった。*nara12* 変異体の解析から、この変異体において、23S rRNA の 3' 側 hidden break 導入効率が低下すること、リボソームの翻訳伸長速度が低下していることが明らかになり、23S rRNA への hidden break 導入はリボソームの翻訳伸長反応に必要であることが分かった。本論文において、植物葉緑体の 23S rRNA への hidden break 導入の生理学的意義が示されたが、hidden break は、様々なバクテリアや原虫・昆虫、一部の哺乳動物、ヒト由来細胞においても観察されており、その意義は不明である。全生物種を通して、はじめて hidden break の役割を明らかにしたことは、生物学上、非常に意義のあるものである。

また、プラスチドの形態により 23S rRNA のプロセッシングパターンが異なり、特にタンパク質合成の盛んな葉緑体において hidden break の導入が促進されていることから、hidden break 導入が翻訳の 1 つの制御点になっていることを見出した。これらの結果から、翻訳装置であるリボソーム自体の構造を hidden break 導入により変化させることで翻訳効率を制御するという、新規の翻訳メカニズムを提唱している。

以上のように、本論文は植物葉緑体のタンパク質高蓄積に関与する新規因子を単離し、また、この因子がリボソーム大サブユニットの 23S rRNA への hidden break 導入に関与すること、hidden break がリボソームの翻訳活性に必須であることを明らかにしたもので、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。