

PPR蛋白質の配列特異的なRNA結合に関する研究

小林, 健人

<https://hdl.handle.net/2324/2236309>

出版情報：九州大学, 2018, 博士（農学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（3）



氏 名	小林 健人			
論 文 名	PPR 蛋白質の配列特異的な RNA 結合に関する研究			
論文調査委員	主 査	九州大学	准教授	中村 崇裕
	副 査	九州大学	教授	石野 良純
	副 査	九州大学	教授	松岡 健

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

pentatricopeptide repeat (PPR) 蛋白質遺伝子は陸上植物で大きなファミリーを形成しており、シロイヌナズナでは約 500 個の異なる PPR 蛋白質遺伝子を見出すことができる。PPR 蛋白質はミトコンドリアや葉緑体遺伝子の発現において、様々な RNA 段階での制御に働く。近年、PPR コードという法則性のもとにそれぞれの PPR 蛋白質が異なる RNA 配列に結合することが明らかになり、PPR 蛋白質アミノ酸配列からの標的 RNA 配列の予測、人工 RNA 結合蛋白質の構築が可能になりつつある。しかし、標的 RNA 配列の予測については、複数の研究グループから異なる方法論が提示されていること、予測結果の信頼度の指標が定まっていないことが課題となっていた。

本論文では、オルガネラ遺伝子の RNA 編集に関わる PLS クラス PPR 蛋白質に着目し、まず 3 つの PPR 蛋白質の標的 RNA 配列の予測と実験的な同定を行った。次に PPR 蛋白質とその標的 RNA 配列に関する最近の文献データを基に PPR コードの改定を行い、標的 RNA 予測に関する方法論の最適化、および予測結果の信頼度の評価を行った。その結果、予測可能なシロイヌナズナ PPR モチーフ 2,693 個の 92.8% に改定 PPR コードが適用可能であること、予測結果として算出される p 値が 10^{-4} 以下で 50% 以上、 10^{-5} 以下で 80% 以上の信頼度を有することを明らかにした。得られた結果を基に、シロイヌナズナに含まれる全 PLS クラス PPR 蛋白質（約 200 個）の標的 RNA 編集部位の網羅的な予測とその予測信頼度をまとめ、様々な植物科学研究者が利用可能なリソースとして公開した。本情報は環境応答や器官発達などの様々な遺伝学的な研究より同定される PLS クラス PPR 蛋白質の分子機能の解析に資するものである。

さらに重要な農業形質の一つである一代雑種育種法で利用される細胞質雄性不稔性 (Cytoplasmic Male Sterility; CMS) に対して稔性回復因子 (Restorer of fertility; Rf) として働く P クラス PPR 蛋白質を解析した。すでにダイコンやナタネの商業栽培で利用されているが、標的 RNA 配列が未同定のダイコン Rf-PPR 蛋白質に着目し、標的 RNA 予測を適用した結果、CMS 型ミトコンドリアゲノム全配列から CMS 遺伝子上の特定の配列を予測 1 位 ($p=1.04 \times 10^{-6}$) で指定できることを示すとともに、予測標的 RNA 配列と Rf-PPR 蛋白質の結合を生化学的手法により実証した。また、本標的 RNA 予測法によって、機能的な Rf-PPR 蛋白質と 4 アミノ酸の違いを持ち、稔性回復機能を有さない *rf* 蛋白質と Rf 蛋白質を区別できること、イネやペチュニアで見出されている他の Rf-PPR 蛋白質の標的 RNA 配列の特定にも有用であることを明らかとし、本論文で新たに構築した標的 RNA 予測および予測結果の評価法が、様々な CMS/Rf システムの開発に適用できることを示した。

以上要するに、本論文は PPR コードを利用した標的オルガネラ RNA 予測が、陸上植物で特異的に拡大した PPR 蛋白質の配列特異的な RNA 結合、さらには PPR 蛋白質が介する植物のミトコンドリア及び葉緑体遺伝子機能のさらなる理解と利用に大きく貢献するとともに、植物分子生物学および育種学の発展に寄与する価値のある業績として認める。

よって本研究者は博士（農学）の学位を得る資格を有すると認める。