

氏名(本籍)	まつ お ま み (長野県)		
学位の種類	博 士 (理 学)		
学位記番号	博 甲 第 1,462 号		
学位授与年月日	平成 8 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	生物科学研究科		
学位論文題目	Molecular Analyses of Lysine tRNA in Mollusk (軟体動物におけるリシン tRNA の分子解析)		
主 査	筑波大学教授	理学博士	牧 岡 俊 樹
副 査	筑波大学教授	農学博士	田 仲 可 昌
副 査	筑波大学教授	理学博士	堀 輝 三
副 査	東京工業大学教授	薬学博士	岡 田 典 弘

論 文 の 要 旨

本論文は、ヤリイカに存在するリシン tRNA 遺伝子およびリシン tRNA そのものを構造解析した上で、tRNA の新たな機能について考察した結果をのべたものである。

著者は、高等真核生物間で塩基配列がよく保存されているリシン tRNA に注目し、ウサギのリシン tRNA をもとに合成したプライマーを用いてさまざまな動物のゲノム DNA を鋳型に PCR (Polymerase Chain Reaction) 法を行ない、軟体動物特異的にリシン tRNA 遺伝子中にイントロンが存在することを明らかにした。さらにこれらのイントロンはアンチコドン UUU のリシン tRNA 遺伝子にのみ存在し、アンチコドン CUU のリシン tRNA 遺伝子には存在しないことを示した。著者は実際にヤリイカゲノム DNA 中からリシン tRNA (UUU) およびリシン tRNA (CUU) 遺伝子を単離し、ヤリイカ tRNA 遺伝子はゲノム中でクラスターを形成していることを示した。これにより、リシン tRNA (UUU) 遺伝子においては、このクラスターを含んだ DNA 断片の単位がヤリイカのゲノム中に縦列して存在していることが示された。また、ヤリイカ細胞中からリシン tRNA (UUU) を精製してその一次構造を決定し、イントロンを含むリシン tRNA (UUU) 遺伝子がヤリイカ成体中で実際に発現していることを明らかにした。

著者はまた、ヤリイカのリシン tRNA を解析中に、アンチコドン CUU のリシン tRNA が Mg^{2+} イオン存在下において特異的部位で切断されることを発見した。切断は15番目のグアニンと16番目のジヒドロウリジンの間で起きる。このような金属イオンによる切断はアンチコドン CUU のヤリイカ tRNA 特異的なもので、アンチコドン UUU のヤリイカ tRNA では観察されなかった。そこで切断に寄与する構造あるいは部位を明らかにするため、変異を導入した転写産物 tRNA を用いて切断実験を行なった。その結果、60番目に位置するシチジンの存在および修飾塩基も含めた tRNA の全体構造が効率的な切断にとって必要であることが明らかとなった。切断産物の末端構造を解析したところ、末端構造は3'リン酸であり、これは天然に存在する他のリボザイムの切断末端構造とは異なる初めての例であるとともに、現存する種々の蛋白質リボヌクレアーゼの切断末端構造と一致していた。生物学的に偏在する Mg^{2+} イオン存在下でこのような tRNA の切断反応が触媒されるという事実により、tRNA が生体内において本来の機能とは別の機能を果たしている、あるいは果たしていた可能性が示唆された。

審 査 の 要 旨

tRNA イントロンの存在は真核生物ゲノムの特徴の一つであるが、その存在が調べられている生物種および tRNA 種が限られていたために、tRNA イントロンの生物界における分布に関する知見は不十分であった。本論文では PCR (Polymerase Chain Reaction) という手法を用いて、イントロンの存在が未知である生物から効率的にイントロンの有無を調べることに成功し、それにより軟体動物からの tRNA イントロンの初めての例を示している。この研究は、生物界における tRNA イントロンの偏在性を支持するものであり、高く評価できる。

本論文では、tRNA が金属イオンの存在下で自らを切断するという興味深い現象についても詳細に報告している。切断反応の最も注目すべき特徴は、切断産物の末端構造が天然に存在するリボザイムの切断末端構造とは異なり、現存する蛋白リボヌクレアーゼの切断末端構造と同じだという点である。本研究は、tRNA はリボザイムから進化してきたのではないかという一つの仮説を支持する独創的な研究であると言える。

よって、著者は博士（理学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。