

審査の結果の要旨

論文提出者氏名 平嶋孝志

光合成の初期過程は、シアノバクテリアの細胞および植物細胞の葉緑体に存在するチラコイド膜において行われる。チラコイド膜には、糖脂質であるモノガラクトシルジアシルグリセロール (MGDG)、ジガラクトシルジアシルグリセロール (DGDG)、スルホキノボシルジアシルグリセロール (SQDG) と、リン脂質であるホスファチジルグリセロール (PG) という 4 種類のグリセロ脂質が存在する。各脂質は脂質二重層を構成する成分として働くばかりでなく、光合成に関わっているタンパク質複合体の成分としても機能しており、チラコイド膜脂質はチラコイド膜の構造および機能を維持するために重要な役割を担っている。植物細胞においては、糖脂質である MGDG、DGDG、SQDG は色素体経路および小胞体経路という 2 つの経路によって合成される。色素体経路では、色素体において合成された脂肪酸が脂質のグリセロール骨格に取り込まれて糖脂質合成の前駆体となるが、小胞体経路では、色素体で合成された脂肪酸がサイトゾルへと輸送された後、小胞体における脂質合成に利用され、小胞体で合成されたリン脂質の一部は色素体へと戻されてジアシルグリセロールに変換されて、色素体における糖脂質合成に用いられる。一方、リン脂質である PG は、色素体経路でのみ合成される。このように、各脂質の合成経路はよくわかっており、各経路に関与する酵素や遺伝子も同定されている。しかし、小胞体で合成された脂質がどのように色素体へと輸送されて糖脂質の合成に利用されるのか、その輸送に関わっているタンパク質の実体や輸送機構はよくわかっていない。そこで、本博士論文では、小胞体-色素体間の脂質輸送を担っているタンパク質について、Steroidogenic acute regulatory protein-related lipid transfer (START) ドメインを持ったタンパク質に注目して研究を行なった。

動物細胞において脂質輸送を担っているタンパク質がいくつか同定されている。START ドメインは、植物を含む真核生物に最もよく保存されている脂質輸送ドメインの 1 つで、動物細胞では、START ドメインを有するタンパク質がリン脂質やスフィンゴ脂質などの脂質の輸送に必要であることが報告されている。本博士論文では、まず植物に存在する START タンパク質の系統解析が行われた。動物の脂質輸送タンパク質と相同な START ドメインを有する植物のタンパク質は、3 つのクレードに分類され、そ

れらはコケ植物、シダ植物および被子植物にそれぞれ保存されていることが明らかとなった。シロイヌナズナなどの多くの植物には多数のホモログが存在していたが、基部陸上植物であるゼニゴケには各クレードに 1 つずつのホモログしか存在せず、機能解析が容易であると判断されたため、ゼニゴケを用いてさらなる解析が進められた。

ゼニゴケに存在するホモログは、STAR1、STAR2、STAR3 と命名された。各タンパク質の細胞内局在性を調べるために、TagRFP との融合タンパク質をゼニゴケの葉状体で一過的に発現させると、STAR1-TagRFP と STAR3-TagRFP の蛍光は細胞周縁部に観察されることから、これらのタンパク質は細胞膜に局在することが明らかとなった。一方、STAR2-TagRFP の蛍光は葉緑体周辺にドット状のパターンとして観察され、葉緑体外包膜に局在する mCitrine と共発現させると、STAR2-TagRFP の蛍光は mCitrine の蛍光と重なったことから、STAR2 は葉緑体包膜上に点状の構造体として局在していることが明らかになった。

次に、STAR2 の機能を明らかにするために、CRISPR-Cas9 システムを用いて *STAR2* 遺伝子に変異を生じた *star2-1* 変異体が生産された。この変異体は、リン十分条件では形態や生育において表現型を示さなかったが、リン欠乏条件では生育が阻害されることから、STAR2 はリン欠乏条件での最適な生育に必要であることが明らかとなった。さらに、リン十分条件およびリン欠乏条件において生育させたゼニゴケ葉状体の脂質分析により、どちらの条件においても野生型と *star2-1* 変異体とで脂質組成に大きな差は見出されなかった。しかし、野生型では糖脂質に含まれる C₂₀ 脂肪酸の割合がリン欠乏に応答して 4 倍程度に増加したのに対し、*star2-1* 変異体ではリン欠乏に応答した C₂₀ 脂肪酸の増加は起こらず、むしろ逆に減少した。一方、色素体経路でのみ合成される PG では、そのような変化は見られなかった。また、葉緑体外の脂質に含まれる C₂₀ 脂肪酸の割合は *star2-1* 変異体でも変化がなかったことから、小胞体での C₂₀ 脂肪酸の合成量が変化したためではなかった。これらの結果から、STAR2 はリン欠乏に応答した C₂₀ 脂肪酸の葉緑体糖脂質への取り込みに必要であり、小胞体-葉緑体間でのグリセロ脂質の輸送に関与している可能性が示唆された。

以上のように、本博士論文の研究によって、ゼニゴケの STAR2 はリン欠乏に応答した C₂₀ 脂肪酸の葉緑体糖脂質への取り込みに必要であり、葉緑体脂質合成の小胞体経路における小胞体-葉緑体間の脂質輸送に直接関与している可能性があることが明らかにされた。本博士論文によって得られた研究成果は、細胞生物学、生化学、植物生理学の研究分野に貴重な知見を提供するものであり、高く評価することができる。よって、本論文は博士（学術）の学位請求論文として合格と認められる。