

審査の結果の要旨

氏名 中村 毅

真核生物の細胞および内部のオルガネラは生体膜で形作られており、この膜構造体が機能を果たすためには適切な形態をとることが重要である。しかしながら、形態を制御する分子機構には未だ不明な点が多く、モデルシステムを用いた体系的研究が求められている。出芽酵母の孢子形成の過程で形成される前孢子膜は、輸送小胞の融合により新規に合成され、形態変化を経て成熟する。そのため前孢子膜の形成過程は、生体膜形成のモデルとして捉えることができる。本研究は、前孢子膜における脂質代謝制御、及び前孢子膜伸長に必須な 1 型プロテインホスファターゼ (PP1) の局在制御についての解析を通して、前孢子膜形成の分子機構に迫ったものである。本論文は、序論と 3 章からなる本論ならびに総合討論より構成されている。

第一章では、前孢子膜伸長に必須な *SPO73* 遺伝子の破壊株のマルチコピーサプレッサーとして取得された、ホスファチジルイノシトール 4-キナーゼ (PI4K) 複合体の遺伝子 (*STT4* の遺伝子断片 および *EFR3*) とその産物について解析を行なっている。孢子形成時の細胞内局在の解析から、PI4K 複合体は前孢子膜に局在し、前孢子膜はホスファチジルイノシトール 4-リン酸 (PI4P) に富んだ膜構造であること、マルチコピーサプレッサーは前孢子膜上の PI4K 複合体の機能を阻害することでサプレッションを起こすことが示唆された。また、*spo73Δ* における触媒サブユニット *Stt4* の孢子形成時特異的な発現抑制や、PI4P 4-ホスファターゼ *Sac1* の触媒ドメイン (*Sac1-P*) を用いた、前孢子膜上の PI4P 量の選択的な減少によっても、サプレッションが見られたことから、*spo73Δ* のサプレッションは前孢子膜の PI4P の量を減少させることによって起きることが示された。

第二章では、*spo73Δ* の表現型の詳細な解析および PI4P 量の変化の影響を受ける因子の探索を行っている。まず、エンドソームや細胞膜に局在するタンパク質の *spo73Δ* における細胞内局在の観察を通して、前孢子膜からエンドソームへの輸送経路が存在し、前孢子膜が伸長できない細胞ではこの経路に異常をきたしていることが示唆された。次に、PI4P と機能的に関係するとされる小胞体-細胞膜接触部位タンパク質の局在を解析し、野生株ではこれらが前孢子膜近傍に局在する一方で、*spo73Δ* では前孢子膜近傍に局在しない、あるいは

は子嚢細胞質側から近接していることが示された。これらの結果は、**Spo73** 依存的に小胞体-前胞子膜接触部位が形成されていることを示唆している。さらに、**Spo73** とともに **SSV** 複合体を形成すると考えられている **Spo71** と **Vps13** はどちらも脂質と相互作用するため、*spo73Δ* のサプレッションとの関係を検討した結果、**Vps13** がサプレッションの中心的役割を担う可能性が示された。

第三章では、**Spo73** と同様に前胞子膜伸長に必須な、**PP1** の胞子形成時特異的な調節サブユニットである **Gip1** の局在機構の解析を行っている。**Gip1** の局在の詳細な解析により、**Gip1** は 紡錘極体、前胞子膜 (小さな球状)、セプチン構造、前胞子膜 (大きな球状)、核へとその局在を変化させることが示された。続いて、**Gip1** の欠失変異体シリーズの解析を行い、前胞子膜やセプチン構造、紡錘極体、核などの局在に寄与する領域を明らかにするとともに、**Gip1** の N 末端が前胞子膜への局在を制御し、C 末端が胞子形成に必要な機能を担うことを見出した。さらに、**Gip1** C 末端と **Glc7** との関係解析した結果、この C 末端領域が脱リン酸化の基質認識を担う可能性も示された。また、**SSV** 複合体タンパク質 **Spo73**、**Spo71**、**Vps13** と **Gip1** との関係について検討した結果、*gip1Δ* と *spo73Δ* あるいは *vps13Δ* の二重破壊株では前胞子膜が相加的に小さくなることなどから、**SSV** 複合体と **Gip1-Glc7** は独立に前胞子膜伸長に関与することが示された。

以上、本論文は出芽酵母前胞子膜伸長における脂質代謝制御と 1 型プロテインホスファターゼ (**PP1**) の局在制御の解析を通して、前胞子膜形成の分子機構解明、そして生体膜形成機構の理解に貢献するものである。これらの研究成果は、学術上応用上寄与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 (農学) の学位論文として価値あるものと認めた。