

審査の結果の要旨

氏名 水池 彩

生体膜の主要構成成分であるリン脂質はオルガネラごとに異なる組成をとり、その組成の違いが膜やオルガネラの機能に重要な役割を果たすと考えられている。このような細胞内の不均一な脂質分布は脂質の局所的な合成と方向性をもった輸送により形成・維持されると考えられている。また、リン脂質合成酵素は特定のオルガネラに局在しており、一部のリン脂質は別のオルガネラに輸送され、他のリン脂質合成の基質としても利用されることから、リン脂質の輸送はリン脂質合成にも深く関与していると考えられている。オルガネラ間の脂質輸送機構としては、小胞輸送非依存的な機構が存在することが知られており、脂質輸送タンパク質やメンブレンコンタクトサイトの関与が議論されているが、それらによる脂質輸送機構は未解明な部分が多く残されている。本論文は、出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* の細胞内リン脂質輸送に関与することが推定される遺伝子 *SFHI* の機能解析と *Sfh1* の属する *Sec14* ファミリータンパク質の機能解析を行ったものである。*Sfh1* は、*in vitro* でホスファチジルイノシトール (PI) およびホスファチジルコリン (PC) の輸送能を有するタンパク質である *Sec14* のホモログである。*SFHI* の高発現により、ミトコンドリアのホスファチジルエタノールアミン (PE) 合成酵素をコードする *PSDI* の破壊株における細胞内およびミトコンドリアの PE 量の低下と非発酵性炭素源培地での生育欠損が部分的に抑圧されることが示されていたが、その機能は未知であった。本論文は序章、研究の成果を述べた第 1 章から第 3 章、及び終章により構成される。

第 1 章ではこれまでに生理的機能が不明であった *Sfh1* の機能解析と、*Sfh1* の機能とメンブレンコンタクトサイトの関連について解析を行った。*Sfh1* 及び *Sfh1* のリン脂質結合欠損変異体の酵母細胞内での結合脂質の解析、*in vitro* でのリン脂質輸送能の解析から *Sfh1* が細胞内でホスファチジルセリン (PS) を輸送する可能性が示唆された。また、ショ糖密度勾配遠心による細胞抽出液の分画より、*Sfh1* が PE 合成酵素 *Psd2* の局在するエンドソームに局在する可能性が示唆された。さらに、*SFHI* の破壊により *PSDI* 破壊株の乳酸培地における生育が悪化し、リン脂質組成も変化することが明らかになった。以上の結果より、*Sfh1*

が小胞体で合成された PS をエンドソームへ輸送することで Psd2 による PE 合成の効率を上げている可能性が考えられた。さらに、*SFHI* の高発現により *PSDI* 破壊株の生育を回復させるためには、ミトコンドリアと小胞体の間でコンタクトサイトを形成する Endoplasmic reticulum-mitochondria encounter structure (ERMES) 複合体が重要であることが示唆された。本章の結果から *SFHI* の高発現により *PSDI* 破壊株の非発酵性炭素源培地における生育が回復する機構についてのモデルが提唱された。

第 2 章では、*Sfh1* が *Sec14* ファミリータンパク質の中で最も相同性、類似性が高い *Sec14* と異なる機能を有する要因の解明を目的として、*Sfh1* と *Sec14* のキメラタンパク質の解析を行った。*Sfh1*、*Sec14*、及びキメラタンパク質の酵母細胞内結合脂質解析の結果、*Sfh1* 及び *Sfh1* の機能を獲得したキメラタンパク質は PE、PC に対する結合の嗜好性が *Sec14* や *Sfh1* の機能を喪失したキメラタンパク質よりも高いことが示唆された。また、*Sfh1*、*Sec14*、及びキメラタンパク質の詳細な局在解析から *Sfh1* として機能するうえでエンドソーム局在が重要である可能性が考えられた。さらに、*Sfh1* の膜認識機構の解明を目的としたスクリーニングより、膜結合に欠損を持つ新規の変異体を 2 種取得した。

第 3 章では、酵母の 6 種類の *Sec14* ファミリータンパク質を全て欠損した場合の表現型を観察するため、*SEC14* ホモログ遺伝子の *SFHI-SFH5* を全て破壊した遺伝的背景で *SEC14* の温度感受性変異を導入した株と *SFHI-SFH5* を破壊した遺伝的背景でオーキシン依存的分解システムにより *Sec14* の分解を誘導できるようにした株を作製し、解析を行った。その結果、*SFHI-SFH5* を全て欠損させることにより、*SEC14* 温度感受性変異株の生育の悪化がみられた。また、2 種の変異体どちらの場合でも *SFH* 遺伝子を全て欠損させることにより *SEC14* の欠損によるミトコンドリアの形態異常が重篤化した。これらのことから、*Sfh* タンパク質が *Sec14* の機能を重複して有していることが示唆された。

以上、本論文では、酵母 *S. cerevisiae* の *Sfh1* の生理的機能を明らかにし、さらに *Sfh1* と *Sec14* との比較解析や *Sec14* ファミリータンパク質を全て欠損させた細胞の解析を行うことにより、リン脂質のオルガネラ間輸送機構の一端を明らかにした。これらの研究成果は、菌類から植物、動物まで広く保存された *Sec14* ファミリータンパク質について新たな知見を与えるものであり、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。