

論文審査の結果の要旨

氏名 伊藤 容子

本論文は植物細胞におけるゴルジ体形成機構の研究についてまとめられたものであり、4章からなる。

第1章は序論であり、真核細胞の生命活動におけるゴルジ体の役割、ゴルジ体の持つ特徴的な層板構造の重要性、他の生物種と比較した植物細胞のゴルジ体の特徴などについて概説されている。

第2章はゴルジ体層板構造の形成について述べられている。ゴルジ体は、扁平な袋状の膜（槽）が複数重なった層板構造をとり、この構造はほとんどの真核生物で保存されている。しかし、この構造がどのようにして形成・維持されるかについては、ほとんど明らかになっていない。菌類が産生する物質である Brefeldin A (BFA) は、小胞体 (ER) -ゴルジ体間の輸送を阻害する。このとき、ゴルジ体は ER に吸収されて消失し、ゴルジ体膜に局在する酵素タンパク質は ER 膜に拡散することが知られている。この反応は可逆的で、BFA を取り除くと正常なゴルジ体が再形成される。本章では、BFA 処理後 BFA を取り除いた際のゴルジ体再形成過程において、それぞれの槽がどのように挙動するかを生きた細胞内で調べた。まず、タバコ培養細胞 BY-2 において BFA 処理に対するゴルジ体マーカーの反応を調べたところ、トランス槽マーカーである ST とシス槽マーカーである ERD2 は BFA 処理によって ER 膜に拡散したが、シス槽マーカーである SYP31 と RER1B が、未知のドット状の構造体に局在することが明らかになった。SYP31 と ERD2 のゴルジ体内局在を詳細に観察すると、SYP31 は ERD2 よりもシス側の槽に主に局在していたことから、ゴルジ体の中でも最もシス側の槽が、BFA 処理に対して他の槽とは異なる反応を示すことが示唆された。このようなシス槽マーカー同士の挙動の違いは、BFA 感受性に改変したシロイヌナズナの根の細胞でも同様に観察された。ER からゴルジ体への輸送を担う COPII 小胞が出芽する ER 膜上のドメインである ER exit site (ERES) をこのドット状構造と共に可視化したところ、両者は非常に近傍に存在していたが、完全には重ならなかった。従って、このドット状構造は、ERES そのものではない独立したコンパートメントであることが示唆された。次に、BFA を除去した後のゴルジ体再形成の観察を行った。その結果、SYP31 が局在するドット状構造が集まることで再形成が開始され、そこへ遅れて ST が集まることになった。このことから、ドット状構造が足場となって最初のシス槽を形成し、その後シスからトランスへ再形成が進行すると考えられた。本章の一連の研究成果は、植物細胞のゴ

ルジ体において最もシス側の槽が他の槽と異なる性質を持っており、さらにそこに局在するタンパク質がゴルジ体の形成に重要な役割を果たすことを示唆する、極めてインパクトの大きな発見である。

第3章はゴルジ体とトランスゴルジ網 (TGN) の関係について述べられている。TGN はゴルジ体の最もトランス側の槽として定義されたオルガネラであるが、植物細胞ではエンドサイトーシス経路においても機能することが提唱されており、ゴルジ体と必ずしも会合せず、ダイナミックに離れる様子も報告されている。そこで本章では、第2章で述べた BFA によるゴルジ体の消失・再形成時において、TGN がどのような挙動を示すか観察を行った。TGN は BFA 処理によってエンドソームと共に凝集体を形成することが知られているが、低濃度の BFA で処理を行うと、TGN マーカーである SYP41 や VHA-a1 は、サイトゾルに拡散したような局在を示した。この状態を全反射顕微鏡で観察したところ、激しく動く小さな構造が非常に多数観察されたため、TGN マーカーは小胞のような極めて小さな膜構造に局在した状態で細胞質に拡散していることが示唆された。さらに、BFA を除去し再形成の観察を行ったところ、拡散していた TGN マーカーのシグナルが、BFA 除去後すぐにドット状に再形成を開始し、ゴルジ体トランス槽が再形成するのは、それより顕著に遅いことが明らかになった。また、再形成の初期においては、TGN とシス槽マーカーのドット状構造に位置的な相関はほとんど見られないが、時間が経過すると両者が集まり、TGN とゴルジ体が会合した状態で再形成する様子が観察された。これらの結果と第2章の結果を総合すると、TGN はゴルジ体の再形成が完了する前に、ゴルジ体に関係なく再形成を開始すると考えられる。本章の一連の研究成果は、TGN がゴルジ体の単なる延長ではなく、ある程度まで独立して形成されうる構造であることを初めて示した点で、非常に斬新である。

第4章は総合討論であり、細胞内膜交通研究における本研究の位置づけ及び今後の展望について議論されている。

なお、本論文第2章は、植村知博助教、庄田恵子、藤本優博士、上田貴志准教授、中野明彦教授との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。