

# 論文審査の結果の要旨

氏名 井元 祐太

本論文は 2 章からなり、第 1 章はペルオキシソームの増殖機構と分裂の高度同調法に関して、第 2 章はペルオキシソーム分裂装置の微細構造同定と機能解析に関して述べられている。

単膜系オルガネラの一つであるペルオキシソームは、脂質代謝によるエネルギー生産とカタラーゼによる活性酸素の分解によって全ての真核生物の生存を支えてきた。その増殖異常は重篤な疾患を起こすことが知られているが、増殖の本質である分裂装置の構造は全く明らかにされていなかった。

ほとんどの生物では 1 細胞あたりに数百から数千ものペルオキシソームを含み、それらが非同調的に分裂する等の理由により解析は困難であった。そこで論文提出者は単細胞紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* (シゾン)を用いて研究を行った。シゾンが (1)1 細胞あたりペルオキシソームを 1 個含み、(2)光の明暗でオルガネラの分裂を同調化することが出来る等、ペルオキシソーム分裂機構の研究に有利な特徴を持つことに着目し、分裂期ペルオキシソームの単離法を開発し、ゲノム科学と形態学によってペルオキシソーム分裂機構の解析を行った。これにより、これまで全く不明であったペルオキシソームの分裂に中心的な役割を果たす分裂装置 Peroxisome-dividing (POD) machinery の構造を同定することに成功し、その機能を解き明かすなど画期的な成果を収めた。POD machinery に含まれていたタンパク質の一つは高等動植物にも保存されているため、今後、ペルオキシソーム分裂機構の普遍原理と起源に迫る可能性を秘めており、本論文の意義は極めて大きい。

第一章ではシゾンの光同調培養と免疫蛍光顕微鏡観察によって、細胞周期におけるペルオキシソームの動態を詳細に解析している。葉緑体とミトコンドリアの分裂が M 期前半に行われたのち、中期以降に約 1.5 時間かけてペルオキシソームは 2 分裂し、一つずつ娘細胞へ分配遺伝されることを明らかにした。ペルオキシソームの分裂は、微小管の関与によってミトコンドリアの分配と協調的に進み、微小管重合阻害剤である Oryzalin 処理によって、ペルオキシソームの分裂速度は著しく遅延することを示した。その結果、ペルオキシソームの分裂は高度に同調化されることを明らかにした。光の明暗と Oryzalin 処理によっ

てペルオキシソーム分裂を高度に同調化したシゾンから、フレンチプレスによる細胞破碎と低張処理、Percoll 密度勾配遠心によって、無傷な分裂期ペルオキシソーム画分を得る方法を開発した。MALDI-TOF-MS とイムノブロット解析によって、この画分にはカタラーゼ等と共にダイナミンの一種である Dnm1 が濃縮されて含まれていることを明らかにした。

第二章では抗 Dnm1 抗体を用いた免疫蛍光・免疫電子顕微鏡観察、遺伝子発現抑制によりペルオキシソーム分裂機構の解析を行っている。Dnm1 はミトコンドリアの分裂に使われた後、ペルオキシソームの分裂面にリング様に局在することを明らかにした。さらに単離された分裂期ペルオキシソームの膜を溶解することで、リングの単離に成功した。詳細な電子顕微鏡観察によってリングの微細構造を解析し、リングの正体が Dnm1 を含む糸状構造の **Dynamamin-based (DB) ring** と、繊維状構造の **Filamentous ring** から成る複合装置 **POD machinery** であることを解明した。また、加圧凍結法を用いた切片の透過型電子顕微鏡観察においても、リング状の構造がペルオキシソーム分裂面に形成されることを明らかにした。さらに、DB ring は Dnm1 の働きによって装置の収縮力を発揮し、この力によって **Filamentous ring** が分解されながら収縮することを示した。収縮の最終段階、すなわちペルオキシソーム包膜のくびり切りにおいては、内側の **Filamentous ring** の分解によって DB ring が膜に接し、くびり切りを行うことが示唆された。これらの結果は、長らく未解決であったペルオキシソーム分裂装置の構造と機能を解き明かしたものであり、その意義は非常に大きい。

Dnm1 が **POD machinery** とミトコンドリアの分裂装置 **Mitochondrial-dividing (MD) machinery** の両方に含まれていることから、論文提出者は **POD machinery** と **MD machinery** が共通起源を持ち、分裂装置の観点からペルオキシソームとミトコンドリアが共通の膜系オルガネラから機能的に分化することで獲得されたという説をペルオキシソームの起源に関する一つの可能性として述べている。今後、**POD machinery** の構成タンパク質の同定により、ペルオキシソームの分裂機構が分子レベルで理解されるとともに、ペルオキシソームが獲得された過程についての知見も得られることが期待される。以上のことから、本論文はペルオキシソームの分裂機構ならびに、その起源を考察した先導的な論文であると結論できる。

なお、本論文第 1 章は黒岩晴子、吉田大和、大沼みお、藤原崇之、吉田昌樹、西田敬二、八木沢芙美、廣岡俊亮、宮城島進也、三角修己、丸山真一郎、黒岩

常祥、河野重行との共同研究であり、また、第二章も上記のものとの共同研究ではあるが、論文提出者が主体となって解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(生命科学)の学位を授与できると認める。

以上 1994 字