

論文の内容の要旨

論文題目 Genetic and molecular approach to the function of phosphatidylglycerol
in *Arabidopsis thaliana*

(シロイヌナズナを用いたホスファチジルグリセロールの機能に関する研究)

氏名 田上 遼

生体膜は細胞の内外を隔てる障壁として生物に必須の構造物であることに加えて、真核生物においては様々な独自の生理機能を有する細胞小器官を区画化し、生命の恒常性を維持する上で欠くことのできない構造物である。生体膜は主に脂質とタンパク質から構成されているが、膜の基本構造は両親媒性を持つ脂質が二層となった脂質二重層により形成されている。膜は単一の脂質分子により形成することができるが、生体膜を形成する膜脂質は、その結合する脂肪酸と極性分子の違いにより、様々な種類があることが知られている。そのように、多様な膜脂質が存在していることの意義について、その全容はいまだ明らかにされていない。

本研究は膜を構成する膜脂質のうちホスファチジルグリセロール(PG)の生理機能について、植物のモデル生物であるシロイヌナズナを用いて遺伝学と分子生物学的解析を通して研究したものである。PGは植物の細胞内では、色素体、小胞体とミトコンドリアにおいて合成されることが、単離した細胞小器官を用いた生化学的な解析によって示されている。PGの生合成に必要なホスファチジルグリセロリン酸(PGP)合成酵素として、シロイヌナズナでは、蛍光タンパク質と融合させたタンパク質を発現させて観察した結果から、色素体とミトコンドリアに局在することが示されている PGP1 と、酵母で発現させたときにマイクロソームに局在する PGP2 とが同定されている。PGP1が破壊された *pgp1* 変異株の葉の細胞における微細構造を観察した結果から、PGP1は葉緑体のチラコイド膜の形成に必要であることが明らかとされた。PGP1はミトコンドリアのPGP合成に必要なが、その *pgp1* 変異株においてミトコンドリ

アの形態、そして呼吸活性などに異常が観察されなかった。これは、その *pgp1* 変異株において、*PGP2* により小胞体で合成された *PG* がミトコンドリアへと輸送されることにより、ミトコンドリアでの *PGP* 合成の欠損とその欠損から生じうるミトコンドリアへの影響が相補されているものと考えられた。しかしながら、いまだ *PGP2* が破壊された *pgp2* 変異株をもちいた研究報告はなかった。

そこで、本研究では *pgp2* 変異株を新たに取得した。その取得した *pgp2* 変異株と *pgp1* 変異株を交配することにより、*pgp1 pgp2* 二重変異株を作製した。それら新しく得られた *pgp2* 変異株と *pgp1 pgp2* 二重変異株における植物の生育、生体膜構造、*PG* の生合成量と *PGP* の合成活性に与える影響を研究した。それらの研究の結果、*PGP2* を破壊しても、植物の成長に異常が見られなかったが、*PGP1* と *PGP2* の両方を破壊すると、胚の発生が遅れて発芽率が大きく減少することから、*PGP1* と *PGP2* が合成する *PG* は胚の正常な発生に必要なことが明らかとなった。胚の細胞における微細構造を観察したところ、*PGP1* が破壊されると、葉と同様に葉緑体のチラコイド膜の形成が起こらなかったが、葉と異なり巨大化したミトコンドリアが一部観察された。本研究により *PGP1* がミトコンドリアの形態の維持をするために必要な役割を果たしていることを示すことができた。さらに、*pgp1* 変異株と *pgp1 pgp2* 二重変異株におけるクロロフィルの蓄積を比較したところ、*pgp1* 変異株と比べて *pgp1 pgp2* 二重変異株はクロロフィルの蓄積が少なかった。そのため、*pgp1* 変異株において *PGP2* が合成する *PG* が葉緑体へと輸送され、クロロフィルの蓄積に関与しているということが考えられた。*PG* の合成をそれぞれの変異株を用いて調べたところ、胚においては *PGP2* が *PGP1* より多くの *PG* を合成していることが示された。葉では *PGP1* が主に *PG* の合成に関わっているという過去の報告と合わせて考えると、*pgp1* 変異株のミトコンドリアに葉では異常が見られなかったものの、胚では異常が見られたという現象は、胚において *PGP2* が合成する *PG* はミトコンドリアへと十分に供給されずに、小胞体において固有の機能を持つ可能性がある。また、*pgp1 pgp2* 二重変異株においてほぼ *PG* の合成および *PGP* 合成活性が検出されなかったことから、胚における *PG* の合成には *PGP1* と *PGP2* を介する経路が主要経路であると考えられた。