

別紙 2

論文審査の結果の要旨

論文提出者氏名 田上 遼

全ての生物は細胞からなり、個々の細胞は細胞膜という生体膜によって仕切られている。また、真核細胞の場合には、細胞内に存在する細胞小器官も生体膜によって区画化されている。これらの生体膜は細胞が生きていくために必要な構造体であり、おもな構成成分は脂質とタンパク質である。脂質が脂質二重層を形成し、それが生体膜の基本構造となっている。細胞が示すほとんどの生命現象は生体膜に依存しているため、生命現象を分子レベルで解明するには脂質の働きを理解することが必要不可欠である。生体膜を構成する脂質は極性脂質と呼ばれ、極性脂質には糖脂質とリン脂質があるが、それぞれに極性基の異なる多様な脂質クラスが存在する。なぜ、多様な脂質クラスが存在するのか、その意義の全容はいまだに明らかにされておらず、それを解き明かすことは生化学・細胞生物学において重要な研究課題の1つである。脂質が単に生体膜の基本構造である脂質二重層を形成して仕切りとしてのみ働くのであれば、これだけの種類の脂質が存在する必要はないであろう。脂質の種類や組成は生体膜ごとに異なっており、脂質が各々の生体膜のもつ機能を発揮する上で何らかの重要な働きをもつことが考えられる。

本博士論文では、生体膜を構成する極性脂質のなかで、リン脂質の1つであるホスファチジルグリセロール (PG) に注目し、モデル植物の1つであるシロイヌナズナを用いて遺伝学と分子生物学の手法により PG の機能を解析した。PG は植物の細胞内では、色素体、小胞体とミトコンドリアの3つの細胞小器官において合成されることが知られている。各細胞小器官で合成される PG はどのような機能を担っているのだろうか。この疑問に答えるために、先行研究において、シロイヌナズナから PG の生合成に関わっている PG リン酸 (PGP) 合成酵素の遺伝子 *PGP1* と *PGP2* が同定され、その後、*PGP1* が破壊された *pgp1* 変異体を用いて PG の機能解析が行われた。シロイヌナズナの細胞において、*PGP1* と蛍光タンパク質とを融合させたタンパク質を発現させると、色素体とミトコンドリアに局在することから、*PGP1* が両細胞小器官での PG 合成に関わっていることが示された。また、*pgp1* 変異体の葉の葉肉細胞では葉緑体が形成されないことから、*PGP1* に依存した PG 合成は葉緑体の分化、特にチラコイド膜の形成に必要であることが明らかとなった。*PGP1* はミトコンドリアでの PG 合成にも必要であるが、*pgp1* 変異体においてミトコンドリアの形態や呼吸活性には異常が観察されなかった。これは、*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 PG 合成の欠損によって生じるミトコンドリアの異常が相補されているものと解釈された。しかし、*PGP2* に依存して小胞体で合成される PG の機能については未だに解析されていなかった。

そこで、本博士論文では、*pgp2* 変異体を取得し、その変異体の性質を野生株と比較した。また、*pgp2* 変異体と *pgp1* 変異体を交配することにより、*pgp1pgp2* 二重変異体を作製し、得られた二重変異体と野生株、*pgp2* 変異体、*pgp1* 変異体の性質を比較することによって、小胞体で合成される PG の機能について解析した。*pgp2* 変異体は野生株と同様に生育し、両者の生育には差が見られなかったが、*pgp1pgp2* 二重変異体では胚の発生が野生株に比べて遅れ、成熟胚まで到達できず、ほとんどの種子は発芽できないことが見出された。これらの結果から、*PGP1* と *PGP2* が胚の正常な発生に必要であることが明らかとなった。また、胚の細胞の微細構造を電子顕微鏡で観察したところ、*pgp1* 変異体では葉の葉肉細胞と同様、胚の色素体においてチラコイド膜が形成されていなかったが、葉の細胞とは異なり巨大化した異常な形態のミトコンドリアが観察された。これらの結果から、*PGP1* は葉の葉肉細胞だけでなく、胚の細胞での葉緑体分化やミトコンドリアの形態維持にも必要であることが明らかとなった。また、*pgp1* 変異体と *pgp1pgp2* 二重変異体を比較したところ、*pgp1* 変異体に比べて *pgp1pgp2* 二重変異体ではクロロフィルの蓄積が少なかった。この結果は、*pgp1* 変異体において *PGP2* に依存して合成される 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を示唆している。PG の合成についても変異体の胚を用いて調べたところ、*PGP1* に依存した経路に比べて *PGP2* に依存した経路によってより多くの PG が合成されていることが示された。*pgp1* 変異体の葉ではミトコンドリアに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事実は、胚では *PGP2* に依存して合成される PG がミトコンドリアへと十分に供給されず、小胞体において固有の機能を持つ可能性があることを示唆している。また、*pgp1pgp2* 二重変異体において、ほとんど PG の合成が検出されなかったことから、胚において PG は *PGP1* と *PGP2* を介する経路によってのみ合成されることが明らかになった。以上により、シロイヌナズナの PG 合成経路には、*PGP1* と *PGP2* に依存した2つの経路があること、*PGP1* に依存した経路が欠損すると、葉だけでなく胚での葉緑体分化に異常が生じ、胚ではミトコンドリアにも形態異常が生じること、両方の経路が欠損すると、正常な胚が形成されず、ミトコンドリアの形態にも異常が生じること、が明らかとなった。これらは、PG が植物細胞において重要な機能を担っていることを示す、大変重要な知見である。

本博士論文の研究では、これまで未解明であった小胞体に局在する *PGP2* に依存した経路で合成される PG の機能を解析し、胚の形成やミトコンドリアの形態維持における PG の重要性を明らかにした。植物生化学・細胞生物学の研究分野に貴重な知見を提供するものであり、高く評価することができる。したがって、本審査委員会は博士（学術）の学位を授与するにふさわしいものと認定する。