

(論文内容の要旨)

細胞内コンパートメントは、各細胞小器官や微小部位がそれぞれに特異的な機能や構造を保持することを可能にする一方で、コンパートメント間での物質の輸送も行っている。植物は進化の過程で高度な輸送システムを確立し、細胞内外の数多くのシグナルに応答するためにこのシステムを使用している。本論文では、序論（第1章）に続いて、モデル植物 *Arabidopsis thaliana* を用いて、植物特異的な3種の SYP7-SNARE タンパク質の細胞内局在機構を解析し(第2章)、また、低分子量 GTP アーゼである、Obg/Era スーパーファミリーに属する全メンバーの細胞小器官局在についての体系的解析を行った(第3章、第4章)。

第1章では、細胞における膜融合を担う SNARE タンパク質、および、リボソーム生合成に関わる Obg/Era スーパーファミリーの先端的研究をレビューし、細胞内局在機構に関する未解明の問題点を抽出した。

第2章では、これまで SYP7-SNARE タンパク質（植物特異的な Qc-SNARE）の細胞内局在は endoplasmic reticulum (ER)か plasma membrane (PM)かのいずれか一方であるとされていたが、実際にはその両方に同時に存在することを示した。また、SYP7-SNARE タンパク質の中で最も主要なタンパク質である、SYP71 は endosomes にも存在することも明らかにした。これらの結果は、SYP71 が、ER や PM への、あるいは endosomes を介した複数の輸送経路に関与していることを示唆している。すなわち、さまざまな組織で細胞が分裂するときなど、少なくとも特定の状況下においては ER と PM の間に直接的な輸送経路が存在する可能性があることを提案した。

第3章は、低分子量 GTP アーゼ Obg/Era スーパーファミリーの細胞内局在と進化に関するものである。これらのタンパク質群は、リボソームの生合成に関与することが知られており、細菌・古細菌・真核生物すべてに保存されている。植物は他の生物と比べてより多くの Obg/Era 遺伝子を持っており、植物特異的な機能を持つことが暗示されるが、植物ホモログの機能は全く知られていない。シロイヌナズナの Obg/Era スーパーファミリーは 18 個のメンバー遺伝子からなり、9 つのサブファミリーに分かれた。ゲノム解析および包括的な局在解析により、植物の Obg/Era スーパーファミリーのメンバー遺伝子が、古細菌、ミトコンドリア、および葉緑体の 3 つの系譜に分かれることを明らかにした。古細菌に近いメンバーは細胞質か核に局在するが、ミトコンドリア系のもはミトコンドリアに、また、葉緑体系譜のもは葉緑体に局在した。

第4章では、核局在 Obg/Era 遺伝子のひとつである Nog1-1 の核内局在、をトランスジェニック植物を用いて詳細に調べた。Nog1-1 の核内局在は核小体であった。Nog1-1 の核小体局在の動態は細胞の発達や細胞周期によって制御されており、細胞分裂初期に一旦消失した Nog1-1 分裂終期には新たに顆粒状構造となって現れる。この構造体を“Nog1 ボディー”と名付けた。

今回の結果を総合すると、植物では、様々な細胞内区画に存在する Obg/Era スーパーファミリーに属するタンパク質群が複雑なネットワークを構成して機能していることが推察される。

(論文審査の結果の要旨)

本研究では、植物の細胞内コンパートメント間でのタンパク質局在化のメカニズムの解明を目指し、大きく分けて二種類のタンパク質スーパーファミリーの解析を行っている。その評価できる点は以下の3点である。

1) 植物特異的な SNARE 分子である 3 つの SYP7 について、膜画分解析や野生型プロモーターを用いた発現解析など多角的な局在解析を行い、これらが PM・ER・endosome に局在することを突き止めた。これらの分子は先行研究において PM か ER のどちらか一方に局在することが報告されており、これまでその真偽について議論されてきた。しかし、本研究においてその両方に局在することが決定され、加えて endosome に局在することを示したことによって、少なくとも特定の状況下において PM と ER の間に直接的な輸送経路があることを示唆した。今回の結果は植物細胞内の物質輸送システムの包括的な理解の上で欠かすことのできないものである。

2) 低分子 GTP アーゼの一種である Obg/Era スーパーファミリーについて、植物が持つ全 18 種類の Obg/Era ホモログの同定、および局在部位の確認を行った。これにより、全 Obg/Era ホモログのうち、古細菌由来のものは核や細胞質に局在すること、そして細菌由来のものは葉緑体やミトコンドリアに局在することを示した。葉緑体やミトコンドリアが細菌由来であり、細胞内共生を経て細胞小器官として発達したことが知られており、遺伝子が核のゲノムに移った後も、祖先系のタンパク質の特徴を保持していることを示している。今回の結果は植物では様々な細胞内コンパートメントに存在する Obg/Era ファミリーが複雑なネットワークを構成して機能しているものと思われる。

3) 全 18 種類の Obg/Era ホモログのうち、核に局在する Nog1-1 に着目し、その詳細な解析を行った。その中でシロイヌナズナでは細胞分裂中に Nog1-1 を含む新しい顆粒状の核内構造が現われることを見出し、「Nog1 ボディー」を名づけた。このような構造は植物の核はもとより、動物の核の研究においてもこれまで見つかっておらず、新規の核内構造であると考えられる。したがって本研究は植物の核内構造の先駆的な研究となると考えられ、将来の発展が期待される。

以上のように本論文は主に細胞内局在観察を最大限に利用することによって細胞内輸送やそれに関わる幾つかの事象を明らかにした重要なものである。いずれの結果も細胞内物質輸送の理解のためには欠かすことのできないものであり、今後さらなる発展が期待される。よって、本論文は博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認めた。

なお、平成 21 年 1 月 26 日、論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。