

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 馮 曉歌

---

ミトコンドリアは真核細胞にほぼ普遍的に存在し、クエン酸回路、電子伝達系、その他多様な代謝過程が行われる。またミトコンドリアは細胞へのエネルギー供給のほか、アポトーシス、細胞のストレス反応、老化、さまざまな遺伝病について鍵となる役割をしていることが徐々に明らかにされつつある。このようなミトコンドリアの多様な機能は、ミトコンドリア自身の構造とよく関連していることが酵母や哺乳動物細胞において明らかになるにしたがい、ミトコンドリアの構造や形態に関する研究が注目されてきた。高等植物においてもミトコンドリアの形態はその機能とよく関連していることが予想される。しかしながら、酵母あるいは哺乳類細胞のミトコンドリアの形態、動態、分配などに関する知見に比べて、高等植物に関する情報はほとんどないのが現状である。本論文では実験植物シロイヌナズナを用いて、ミトコンドリア形態に関する基礎的な知見を得るために突然変異を誘発し、その後代からミトコンドリアの分裂に関与すると思われる新規遺伝子を同定した。

### 1. 変異体のスクリーニング

申請者は、ミトコンドリアを可視化する目的で、ミトコンドリア移行シグナルを付加した緑色蛍光タンパク質 (GFP) 遺伝子を導入した形質転換シロイヌナズナを材料として利用した。この形質転換体は、GFP の蛍光により生きたまま容易にミトコンドリアを観察することができる。この系統に EMS 処理を行い、この後代約 19,000 ラインの M2 植物を用いて、スクリーニングを行った。播種後 2 - 3 週間の本葉を用いて、蛍光顕微鏡下で観察することによりミトコンドリアの形態異常株を探索した。その結果、17 個体のミトコンドリア形態異常を示す突然変異系統 (ライン 1-17) を得た。ミトコンドリアの形態異常となる突然変異株を得る目的で、ミトコンドリアを可視化した系統に対し突然変異を誘発した点は、非常に独創的である。

### 2. 各変異系統のミトコンドリアの形態

申請者は、得られたそれぞれの系統についてのミトコンドリアの形態を詳細に観察して、記録している。蛍光顕微鏡下で観察したミトコンドリアの形、サイズおよび細胞内での分布などは、系統ごとにそれぞれ異なっていた。共通の変化としては、以下二つの変化がみられた。野生型のミトコンドリアが直径 0.5-2 $\mu$ m ほどの粒状もしくは桿状で、数も非常に多いのに対して、突然変異系統では非常に長いもの (4-50 $\mu$ m) が多かった。また直径 8 $\mu$ m 程度の球状のミトコンドリアも同時に観察された。変異系統では、野生型と比較して細胞あたりのミトコンドリアの数が減少することが多かった。

正常なミトコンドリアの形態は、分裂と融合のバランスによって維持されているといわれ

ている。本研究で得られた突然変異系統は、すべてミトコンドリアが長大化しており、ミトコンドリア分裂が阻害されて融合のみが起ることによって、ミトコンドリアが長大化したものと考えられた。

本論文では、ミトコンドリア形態異常を持つ系統の植物体の草型、稔性、開花に要する日数、発芽率等も同時に調べているが、ミトコンドリアの形態異常の程度と植物体のこれら植物体の表現型には大きな相関はなく、総じて野生型と大きな差異は認められなかった。

### 3. 突然変異体原因遺伝子のマッピング

さらに申請者は、得られた 17 系統の変異系統から 7 系統を用いて、原因遺伝子のマッピングを行った。その結果、4 系統（ライン 1, 2, 3, 4）の原因遺伝子が 4 番染色体、3 系統（ライン 5, 6, 7）の原因遺伝子が 5 番染色体に座乗することがわかった。4 番染色体に原因遺伝子を持つ 4 系統のうち 3 系統（ライン 2, 3, 4）については、4 番染色体の 16,280~16,500kb の領域にマップされた。この領域は、既にミトコンドリア分裂に関与することが報告されているダイナミン様タンパク質 **DRP3A (ADL2a)** をコードする遺伝子が存在している 16,200 kb に極めて近い位置である。他の 1 系統（ライン 1）は、4 番染色体の 9,600~11,800 kb 領域に座乗していることがわかった。

5 番染色体にマップされた 3 系統のうち、1 系統（ライン 7）は 5,940~7,500 kb の領域、また 2 系統（ライン 5, 6）は 7,500~ 8,800 kb の領域に原因遺伝子が座乗することがわかった。この領域の近傍には、シロイヌナズナを用いて同様の方法で単離されたミトコンドリア形態異常の遺伝子が既に報告されている。

以上のように、本研究では 7 系統の突然変異遺伝子についてラフマッピングをおこなった。その結果、6 系統についてはその原因遺伝子が既に報告されているシロイヌナズナのミトコンドリア形態に関する遺伝子と同一である可能性を否定できなかった。残りの 1 系統（ライン 1）については、他の生物種で知られているミトコンドリア形態に関する遺伝子のホモログが、シロイヌナズナゲノム上のこの領域には存在しないので、全生物種においてはじめて見出した新規遺伝子である可能性が高い。

以上本論文では、ミトコンドリアを GFP で可視化した形質転換シロイヌナズナに突然変異を誘発することにより、通常観察することが困難なミトコンドリアの形態変化を効率よく観察し、変異系統を作製した。さらに、一部の系統については、その原因遺伝子をマッピングし、座乗位置を決定した。その結果、少なくとも 1 個の遺伝子は、全生物種を通じて新規のミトコンドリア形態に関する遺伝子であることがわかった。これらの知見は、ミトコンドリアの分裂に関する基礎的知見を与えるとともに、ミトコンドリアの機能の人為的調節を考える際の基礎となるものであり、学術上また応用上、価値あるものである。したがって、審査委員一同は本論文が博士（農学）に値するものと認めた。