

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 鈴木伸郎

第一章では、研究の背景と目的を述べている。多細胞生物が個体を維持するには、離れた器官同士での「栄養」や「情報」のやり取りが必須である。高等植物は、維管束と呼ばれる組織を発達させることで、器官間の物質輸送システムを構築している。維管束系は「導管」と「篩管」という二つの管(くだ)を中心に形成されているが、導管を構成する管状要素は、分化の過程で「死細胞」となり、木化した細胞壁の連なりから導管を形成するのに対し、篩管を構成する篩部要素は、分化の過程で核やリボソームなど多くの細胞内小器官を失いながらも、細胞膜を有した「生きた細胞」として、お互いの細胞を連ねて篩管を形成する。タンパク質や核酸の合成能力を持たない細胞の連なりの篩管であるが、これまでいく種類かのタンパク質存在が確認されてきた。本研究は、特に篩管液中のタンパク質に注目し、新規に篩管タンパク質を同定し解析することで、篩管中のタンパク質の役割について知見を得ることを試みたものである。本研究ではインセクトレーザー法によりイネから採取した篩管液から、存在量の多いタンパク質 ACBP(acyl-CoA binding protein)を新規に同定した。

第2章では、イネ篩管液から新規なタンパク質 ACBP の同定について述べている。インセクトレーザー法により採取した篩管液を遠心処理し、上清画分に含まれるタンパク質を二次元電気泳動で分離した。この画分において最も存在量の多い分子量 10kDa のタンパク質(RPP10)について、アミノ酸シーケンサーにより N 末端配列 20 残基を決定した。このペプチド配列を基にイネの全ゲノム配列を検索したところ、予想アミノ酸配列が 100%一致する遺伝子が唯一存在した。そしてこの RPP10 遺伝子がコードするタンパク質を基にデータベース検索を行ったところ、脂質合成や脂肪酸酸化の中間体である acyl-CoA と結合する活性を持つタンパク質 acyl-CoA binding protein (ACBP)と非常に高い相同性を示した。合成した組み換え RPP10 タンパク質は acyl-CoA 結合活性を持つことを確認した。植物における ACBP の役割として、葉緑体において

合成された脂肪酸が ER の脂質合成系へと輸送される際に、経由する細胞質において acyl-CoA と結合することで、脂肪酸の「細胞内輸送」に関与していると考えられていた。しかしながら「器官間輸送の器官である篩管において ACBP が存在することを示したのは本研究が初めてであった。

第 3 章ではイネにおける ACBP の器官における発現解析を行い、このタンパク質が根・葉においてもその存在が確認されたが、篩管液において最も高い濃度(0.74 μ M)で存在していた。また、抗 ACBP 抗体を用いた免疫組織染色法により、ACBP の局在を細胞レベルで解析したところ、維管束組織の伴細胞に特に多く存在することが確認された。今回の結果は、伴細胞内で合成されたタンパク質が、篩部要素内へ移行するというモデルを強く支持するものである。

第 4 章では、単子葉植物であるサトウヤシ(*Cocos nucifera*)、双子葉植物であるカボチャ(*Cucurbita maxima*)、アブラナ(*Brassica napus*)の篩管液においても ACBP の存在が確認された。

第 5 章では ACBP あるいは acyl-CoA の篩管による長距離の輸送の意義について考察している。

以上要するに、本研究は植物篩管液からの新規タンパク質 acyl-CoA binding protein の同定であり、篩管を介した脂肪酸の長距離輸送という新たな植物の輸送機能を提唱する知見となっており、学術上応用上寄与するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士(農学)の学位として価値あるものと認めた。