

# 論文審査の結果の要旨

氏名 佐藤 繭子

本論文は3章からなり、第1章は原核生物由来の葉緑体分裂遺伝子 *CpFtsZ-cy* の単離、第2章はシアネレにおける FtsZ タンパク質の動態、および FtsZ とペプチドグリカン合成の関係についての解析、第3章はシアネレ分裂時に起こるシアネレ表面と内部の構造変化に関する電子顕微鏡観察について述べられている。

灰色植物門の藻類の葉緑体(シアネレ)は、葉緑体二重包膜の間にペプチドグリカン層を維持している。ペプチドグリカン層は他の植物の葉緑体では既に失われており、灰色藻は植物の系統進化を考える上で重要な位置にある。本論文提出者の佐藤繭子は、灰色植物の一種 *Cyanophora paradoxa* のシアネレ分裂において、FtsZ タンパク質がアーク構造を経た後にリング構造を形成すること、また他の葉緑体と異なり、内部の分裂装置の機能が重要であることを明らかにした。これは、植物の進化過程で葉緑体分裂制御システムがどのように獲得されてきたのか、また原核生物由来の分裂装置が果たす機能について理解するうえで極めて重要な知見である。

第1章では、*C. paradoxa* から原核生物由来の葉緑体分裂遺伝子 *FtsZ (CpFtsZ-cy)* の全塩基配列を単離している。予測されるアミノ酸配列の N 末端 35 アミノ酸残基が葉緑体移行ペプチドであると予測された。また分子系統解析から、*CpFtsZ-cy* は緑色植物の FtsZ1 ファミリーに近縁である可能性が示唆された。

第2章では、シアネレ分裂における FtsZ の動態を、抗 FtsZ 抗体を用いた間接蛍光抗体染色により調べている。シアネレは、片側がくびれた腎臓型(ステージ I)、くびれが分裂面全周に広がったダンベル型(ステージ II)を経て、分裂面の隔壁形成が完了し(ステージ III)、分裂する(ステージ IV)。抗体染色の結果から、FtsZ が分裂面にリングを形成すること、分裂が進むにつれて FtsZ リングが収縮することが確かめられた(ステージ IIa-IIIa)。さらに、1) 分裂初期に FtsZ は分裂面片側に弧(アーク)を描くように局在していた(ステージ I)。FtsZ アークが見られるシアネレは分裂面の片側のみがくびれているもので、くびれの位置と FtsZ の局在は一致していた。2) 分裂の最後に、FtsZ リングが分裂面に対して平行に分離していた(ステージ

IIIb)。これら二つの特徴は、シアネレが分裂時にペプチドグリカン隔壁を形成することに起因していると考えられ、他の葉緑体には見られないものである。続いて、シアネレにおける FtsZ アーク・リング形成とペプチドグリカン合成酵素 (Penicillin binding protein: PBP) との関係を知るため、PBP の活性を阻害する  $\beta$ -ラクタム系抗生物質アンピシリンを用いて阻害剤実験を行っている。シアネレでは分裂終了後すぐに次の分裂が開始されるため、分裂周期を通してくびれの入ったシアネレが観察される。アンピシリン処理の結果、くびれのない球形のシアネレが見られるようになった。くびれのないシアネレの FtsZ 抗体染色では、FtsZ アークまたはリングが形成されていた。このことから、FtsZ の局在化は PBP とは独立に起こることがわかった。またペプチドグリカン合成阻害条件下では FtsZ の収縮・分離が阻害されていた。このことから、FtsZ の収縮・分離はペプチドグリカン隔壁形成にともなって起こることが示唆された。

第3章では、シアネレ分裂装置の微細構造の、電子顕微鏡を用いた観察について述べている。始めに、フィールドエミッション型走査型電子顕微鏡を用いて、単離シアネレ表面を観察した。膜の陥入はシアネレ表層の一箇所にできる溝から始まり、深い溝をもつ腎臓形になってから、くびれが拡大してダンベル状になる。くびれた表層に Outer PD リングが観察されることはなかった。分裂面は鋭い角度で陥入しており、バクテリアの分裂面と類似していた。分裂面の最初のくびれの位置と長さとはアーク状の FtsZ と一致しており、包膜陥入には、FtsZ リングを含むシアネレ内部の分裂装置が関与すると考えられる。続いて透過型電子顕微鏡を用いシアネレ内部の分裂装置の観察を行った。化学固定に加え、急速凍結と加圧凍結固定法で細胞を固定し、分裂面内部の微細構造を観察した。Inner PD リングは、化学固定法では内包膜陥入部にドット状の電子密度の高い構造として、凍結固定法では陥入部に沿うようなベルト構造として観察された。透過型電子顕微鏡観察においても、外包膜の上に Outer PD リングに相当する構造は観察されなかった。

なお、本論文第1章は、西川壽一、山崎誠和、河野重行との共同研究で、共著論文として論文発表もしているが、本論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（生命科学）の学位を授与できると認める。