論文審査の結果の要旨

氏名　溝　井　順　哉

本論文は５章からなる。第１章は、イントロダクションであり、生体膜を構成するリン脂質であるホスファチジルエタノールアミン（PE）の物理化学的性質、様々な生物における生合成経路と、既知の生理学的機能について述べている。また、研究の目的として，モデル植物であるシロイヌナズナにおけるPEの生理学的機能を解明することと、その生合成に関与する３つの経路のひとつであるCDP-エタノールアミン経路の役割を検証することを挙げている。

第２章では、CDP-エタノールアミン経路の鍵酵素であるCDP-エタノールアミン合成酵素（PECT）をコードする*PECT1*遺伝子の突然変異アリルの単離について述べている。逆遺伝学的なスクリーニングの手法としては通常DNAフラグメントの挿入変異を探索するが、本研究では一塩基置換をTilling法で探索し、性質の異なる複数の突然変異アリルの単離に成功している。*pect1-4* アリルは、ミスセンス変異で、そのホモ接合体のPECT活性は野生型の26%まで低下する。また、*pect1-6* はスプライシングの異常によるヌルアリルで、ヘテロ接合体のPECT活性は野生型の51%まで低下する。また、両者の交配によって作出された*pect1-4/pect1-6* F1植物は、PECT活性が野生型の19%まで低下する。これらは、植物においてPE合成経路の酵素活性が低下する変異体を単離した初めての例である。

第３章では、胚発生における *PECT1* の役割の検証について述べている。*pect1-6*ホモ接合体は胚性致死であり、胚発生の８細胞期に生育を停止することを示し、シロイヌナズナの初期胚発生にとって*PECT1*が必須であると結論している。また、*pect1-4*ホモ接合体の胚は生育が遅延すること、*pect1-4/pect1-6*F1胚は生育遅延に加え、部分的な致死性を示すことから、初期以降の胚発生においても十分なPECT活性の維持が必要であると結論している。これまでPE生合成の各経路が植物の胚発生においてどのような役割を担っているのか不明であったが、以上の結果は、CDP-エタノールアミン経路がシロイヌナズナの胚の生育にとって重要な役割を持つことを明らかにした点で新奇性がある。本章では、さらに、野生型と*pect1-6*ヘテロ接合体の相反交雑により、*pect1-6*アリルを持つ配偶子が野生型アリルを持つ配偶子と稔性に差は見られないことを示して、*PECT1*の発現は配偶子世代では必要ではないことを明らかにし、その理由に関しての考察を述べている。

第４章では、栄養生長および生殖生長における *PECT1* の役割の検証について述べている。まず、*pect1-4/pect1-6* F1 植物が著しい矮性を示すことから、この表現型について解析を行い、組織切片の観察結果から、矮小化の原因として細胞数と細胞サイズの減少、細胞間隙の発達阻害を指摘している。また、*pect1-4* ホモ接合体と *pect1-4/pect1-6* F1 植物の示す稔性の低下について解析を行い、これらの植物では、雄性・雌性の各配偶体を作る能力が低下しており、正常な配偶体の数の減少が稔性低下の原因であることを指摘している。以上の結果から、シロイヌナズナの栄養生長・生殖生長にとっては十分な PECT 活性が必要であると結論している。また、これらの植物における膜脂質の組成を分析し、極性グリセロ脂質のうち PE の占める割合が *pect1-4* ホモ接合体で野生型の 92%、*pect1-4/pect1-6* F1 植物で野生型の 65%になっていることを示している。*pect1-4/pect1-6* F1 植物の矮性化を考慮すると、この結果は、数字以上にシロイヌナズナの PE 生合成にとって、CDP-エタノールアミン経路が主要な役割を果たしていることを示している。これは過去の代謝研究による予測に対して分子遺伝学的な証明を与えたものとみなせる。

第５章では、考察および将来の展望が述べられている。まず、本研究によって得られた知見から、植物の PE 合成経路について考察している。また、PE 含量の低下によって最初に影響される因子を探索するためのアプローチについて展望が述べられている。

本研究は、植物において、PE 含量の低下した変異体を単離した始めての例である。また、この変異体は、植物における PE の生理学的機能を調べる上で、重要な材料となりうる。

なお、本論文第２章、３章及び４章は、西田生郎・中村正展との共同研究であるが，論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので、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（理学）の学位を授与できると認める。