

# 論文審査の結果の要旨

氏名 吉田 大和

本論文は2章からなり、第1章は色素体分裂装置の構造と分子機構に関して、第2章はミトコンドリア分裂装置の構造と分子機構に関して述べられている。

本研究の目的はオルガネラの分裂装置を単離し、そのダイナミックな構造と関連遺伝子を解明することであった。しかしながら、高等動植物では1細胞あたりのミトコンドリアや色素体の数が多い、同調的に分裂をしない、更に分裂装置が小さい等の理由により、オルガネラの分裂装置を単離することが難しかった。一方シズンは、①1細胞あたりミトコンドリアと色素体をそれぞれ1個含み、分裂装置も大きい。②光の明暗でこれらの分裂を同調化することが出来る。③細胞壁が発達していないためオルガネラの分画が可能である等、本研究を進めるのに有利な特質を備えていた。

高度同調培養系と細胞分画を行うことで無傷な分裂期色素体を大量に単離した。次にこれを非イオン性界面活性剤 NonidetP-40(NP-40)で処理し、外胞膜と色素体分裂装置複合体画分を得た。さらに *n*-octyl- $\beta$ -D-glucopyranoside(OG)で処理し、色素体外膜のみを溶解することで無傷な色素体分裂装置画分を得ることに成功した。

色素体分裂装置のダイナミックトリオのうち、どのリングが、あるいはどの要素が収縮力を発生させているのだろうか。そこで FtsZ だけを遊離した分裂装置、あるいはダイナミンだけを遊離した色素体分裂装置を調整した。その結果、FtsZ が遊離した分裂装置と無傷な分裂装置ではらせんが観察されたが、ダイナミンが遊離したものではらせん構造をとらず、直線状に伸びた構造を示した。このことからダイナミンが収縮力の発生に重要な役割を果たしていると考えられた。そこで光ピンセットを用いてダイナミンを保持する色素体分裂装置を操作したところ、色素体分裂装置の起動力を発生させているのは FtsZ ではなくダイナミン分子であることが分かった。またダイナミン分子の挙動を免疫電子顕微鏡法で詳細に解析した結果、ダイナミンは次の2つのステップで色素体の分裂に加わっていることが示唆された。(i)色素体分裂前期では、ダイナミン分子は PD リング繊維の間隙に結合し、PD リング繊維をスライディングさせることによって色素体分裂のための収縮力を発生させる。(ii)色素体分裂後期では、色素体分裂装置の外側に結合していたダイナミン分子は内側へと移動し、色素体膜へ直接作用して膜のくびり切りを行う。このような2段階での制御によって、色素体の分裂は行われている事が明らかになった。

ミトコンドリアの分裂は MD リング、FtsZ1、Dnm1 を中心としたミトコンドリア分裂装置によって行われている。しかしながらミトコンドリア分裂装置構成タンパク質、特に内側の構成タンパク質は殆ど明らかになっていない。そこで本研究では色素体分裂装置の単離法を応用し、ミトコンドリア分

裂装置を無傷に単離し、プロテオーム解析を行うことで新規ミトコンドリア分裂装置内部構成タンパク質を明らかにすることを目標とした。

シゾンの細胞分裂の初期においてはミトコンドリアと色素体分裂装置が結合した構造をとり、後期には分離することが明らかになった。この性質を利用し、分裂期前期のミトコンドリア・色素体複合体を単離し、更に界面活性剤処理を行うことによってミトコンドリア・色素体分裂装置複合体を単離することに成功した。

このようにして単離したミトコンドリア・色素体分裂装置から新規ミトコンドリア内部の分裂タンパク質を同定するため、ミトコンドリア・色素体分裂装置画分と分裂後期の細胞から単離された色素体分裂装置画分のプロテオミクスの結果を比較し、ミトコンドリア分裂装置構成タンパク質群を同定した。さらに配列予測プログラム (Target-P) を用いて、ミトコンドリア分裂装置構成タンパク質群の中から新規ミトコンドリア内部の分裂タンパク質を同定し、**ZED** と名付けた。マイクロアレイ解析から、**ZED** 遺伝子はこれまで知られているミトコンドリア分裂遺伝子、特に *FtsZ1-1* 遺伝子と極めて類似の発現パターンを示すことが分かった。また **ZED** はミトコンドリア分裂開始時にミトコンドリアマトリクス全体に確認され、続いて *FtsZ1* と分裂面に共局在し、**ZED-FtsZ1** リング複合体構造を形成することが分かった。

なお、本論文第1章は黒岩晴子、三角修己、西田敬二、八木沢芙美、藤原崇之、七宮英晃、河村富士夫、黒岩常祥、河野重行との共同研究であるが、論文提出者が主体となって解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 (生命科学) の学位を授与できると認める。