

論文審査の結果の要旨

氏名 片山 健太

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、生体膜の構成成分である脂質の重要性、脂質の構造と生合成、ミトコンドリアに局在する脂質であるカルジオリピン (CL) の生合成と機能、本研究の目的について述べられている。第2章は、CLの機能を解明するために行われたシロイヌナズナからのCL合成酵素遺伝子の同定が記述されている。隠れマルコフモデルを用いた曖昧なモチーフ配列の推定を利用し、脂質合成酵素によく見られる CDP-アルコールホスホトランスフェラーゼモチーフを持つアミノ酸配列を系統樹上で分類することにより、シロイヌナズナのCL合成酵素遺伝子 *CLS* を同定することに成功した。同定した *CLS* を大腸菌のCL合成欠損株において発現させると、真核生物型のCL合成酵素活性が見られることから、*CLS* が確かにCL合成酵素をコードしていることが示された。これは、多細胞生物からCL合成酵素の遺伝子を同定した最初の例として高く評価される。

第3章では、*CLS* 遺伝子が破壊されたシロイヌナズナの T-DNA タグラインを用いた *CLS* の機能解析について記述されている。*CLS* 遺伝子に T-DNA が挿入された2つの *cls* 変異株 (*cls-1*, *cls-2*) について、表現型を解析することで *CLS* の機能を解析した。*cls* 変異株では通常栽培条件下において胚の発生が途中で停止することが観察されたため、胚性致死であると考えられたが、胚を *in vitro* で培養したところ、自家受粉させた *CLS/cls* の果実中の全ての胚が完成胚にまで成長した。そのため、親である *CLS/cls* 変異体の栽培法を検討し、通常の栽培法では得られない *cls/cls* の個体を得ることに成功した。分離した *cls/cls* は、胚発生や根の伸張が遅延し、子葉における維管束パターンの乱れや植物体の成長の遅延が見られるなどの表現型が観察された。これらの表現型は *cls-1* に比べて *cls-2* でより顕著に現れた。この *cls-2* 変異体に外来エストラジオールによって発現が誘導されるプロモーターと *CLS* の cDNA を繋いだキメラ遺伝子 pER8:*CLS* を導入すると、表現型の回復が見られた。これらの結果から、*CLS* 遺伝子が植物における

胚の発生や形態形成において重要な機能を担っていることが示された。これまで、CL 合成酵素の遺伝子が破壊された植物体や動物体は報告されておらず、この研究において初めて個体レベルにおける CL 合成酵素遺伝子の重要性が示された。

第4章では、*cls* 変異体の CL 合成能が低下しているかどうかを調べ、*cls* 変異株の表現型が CL 合成能とリンクしているかどうかを解析した。まず、変異体の芽生えを^[33P]Piを用いてラベルすることで、CL 合成能を調べた。その結果、CL の合成能は、WT, *cls-1/cls-1*, *cls-2/cls-2* の順に低下し、pER8:*CLS* を *cls-2* に導入した株では、根の伸長が外来エストラジオール濃度依存的に回復した。また、この株のカルスではエストラジオールの投与により CL 量が上昇し、CL 合成酵素活性は、誘導後急激に上昇した。これらの結果は、CLS が CL 合成酵素活性を介して CL 量を制御可能であり、CL が植物の成長や形態形成において重要な機能を担っていることを示している。次に、野生株と変異株においてミトコンドリアを YFP で可視化して形態を観察したところ、*cls* 変異株の細胞には巨大化したミトコンドリアが存在することが見出され、電子顕微鏡によってもその存在が確認された。また、エストラジオールによって *CLS* の発現を誘導した変異株のカルスでは、エストラジオールの誘導に伴いミトコンドリア数が増加し、ミトコンドリアの形態が正常となった。これらの結果は、CL がミトコンドリアの形態維持において重要な機能を担っていることを示している。これまで、CL がミトコンドリアの形態の維持に関わっていることを報告した例はなく、この研究によって初めて CL がミトコンドリアの形態維持に関わっていることが明らかとなった。

第5章では、本研究によって明らかとなった CL の機能がまとめられている。本研究は、CL が植物において発生やミトコンドリアの形態維持において重要な機能を担っていることを初めて明らかにし、この研究による成果は、植物科学の分野に大きく貢献するものである。

なお、本論文の第2章は桜井勇・和田元、第3章は和田元、第4章は棚橋沙由理・永田典子・Hana Akbari・Margrit Frentzen・和田元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。