

論文審査の結果の要旨

氏名 西川 壽一

本論文は 2 章からなり、共に二次共生藻のオルガネラにおける原核型分裂遺伝子 *ftsZ* の進化とその輸送機構について述べられている。第 1 章では、ハプト植物 *Pavlova pinguis* より *ftsZ* を単離し、タバコ培養細胞の一過的発現系を用いて機能解析を行い、第 2 章では、不等毛植物の珪藻 *Chaetoceros neogracile* より *ftsZ* を単離し、同じ珪藻 *Phaeodactylum tricornutum* の形質転換系を用いて機能解析を行っている。

第 1 章では以下の 1, 2 を、第 2 章では以下の 3, 4 を明らかにした。

1. ハプト植物 *P. pinguis* より 1 種類の *ftsZ* を単離した。分子系統解析の結果、紅色植物の葉緑体型 FtsZC と同じクレードを形成した。オルガネラ移行配列予測の結果、移行配列は不等毛植物やクリプト植物と同様の構造であり、ゴルジ体を経由せず直接葉緑体へタンパク質が輸送されている可能性が示唆された。
2. タバコ培養細胞の一過的発現系を用いた局在観察により、*P. pinguis* の葉緑体移行配列は、一次共生藻由来の陸上植物でも機能し、内側 2 枚の包膜は陸上植物と同様の輸送機構がある可能性が示唆された。この系で葉緑体へのタンパク質輸送能力があったのは pTP のみであり、SP と SP + pTP は ER までの輸送能力しかなかった。しかし、外側から 2 枚目の葉緑体膜 (PPM) 通過以外の機構は、陸上植物でも二次共生藻でも同様である可能性を示すことができた。PPM の通過機構はいまだ不明であり、これが二次共生藻に特有の葉緑体タンパク質輸送機構であると考えられる。
3. 珪藻 *C. neogracile* より 4 種類の *ftsZ* を単離した。分子系統解析の結果 *C. neogracile* の FtsZ のうち 2 種類が葉緑体型 FtsZA、1 種類が葉緑体型 FtsZC、残り 1 種類がミトコンドリア型 FtsZ と同じクレードを形成した。ゲノム解読が終了している他の 2 種類の珪藻も 3 種類の葉緑体型 FtsZ を保持しており、それぞれが同じクレードを形成することから、現在の珪藻に分岐する前の始原的な珪藻で葉緑体型 FtsZ が 3 種類存在していた可能性がある。
4. 珪藻 *P. tricornutum* の形質転換系を用いた観察により、*C. neogracile* のオルガネラ移行配列は、二次共生藻のオルガネラ移行配列として機能していることが示された。SP を導入した株の観察より、外側から 2 枚目の葉緑体膜を通過する直前に、BLS が形成されるくびれ近傍の限定された箇所にタンパク質が局在あるいは結合されることが示された。また、同調的に sGFP を発現させた SP + pTP を導入した株の観察から、葉緑体タンパク質は葉緑体のくびれ部分近傍を通過し、葉緑体内に輸送されることが示唆された。以上の結果より、以下の葉緑体タンパク質輸送機構について考察する。葉緑体タンパク質は最外膜の cER を通過後、cER と PPM で挟まれた区画にある BLS が存在する限定された箇所で蓄積され、そこから内側の 2 枚の葉緑体包膜を通過し、

葉緑体内へタンパク質が輸送される。内側から 2 枚目の葉緑体包膜のトランスロケータである **Omp85** も、葉緑体のくびれ近傍に局在が見られることから、内側 3 枚の葉緑体膜のトランスロケータは限られた部分に存在している可能性が考えられる。

二次共生藻のオルガネラ移行配列をタバコ培養細胞で確認した報告はこれまでになく、珪藻の形質転換系を用いて同一遺伝子において ER、葉緑体、ミトコンドリアの各移行配列をすべて解析した報告もない。また、タバコ培養細胞と珪藻の形質転換系を用いた移行配列の機能解析結果の比較により、二次共生藻のオルガネラにおけるタンパク質輸送機構の特徴が明らかとなった。さらに、珪藻の形質転換体の観察により、珪藻 *Phaeodactylum* の葉緑体トランスロケータの位相に関し、新たな知見を展開している。以上より、本論文は二次共生藻におけるオルガネラタンパク質の輸送機構に関し、これまでの報告を踏まえた上で新たな知見を提唱するものとして、非常に重要である。

なお、本論文第1章は梶谷博之、佐藤繭子、森山陽介、茂木祐子、河野重行、第2章は森山陽介、佐藤繭子、佐野俊夫、馳澤盛一郎、大田修平、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、論文提出者が主体となって研究および論文作成を行ったもので、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。

以上 1,857 字