

論文内容の要旨

申請者氏名 新濱 充

真核生物の細胞内に存在する小胞体、ゴルジ体、エンドソーム/液胞前区画、リソソーム/液胞、細胞膜間のタンパク質や膜の輸送は主に小胞輸送により行われる。輸送小胞膜と標的膜との特異的融合過程では SNARE タンパク質群が重要な役割を果たす。我々の研究室で見つけた重力屈性と形態の異常を示すシロイヌナズナ *zigzag* (*zig*) 変異体の原因遺伝子は SNARE *VTI11* をコードしていた。申請者は、*ZIG/VTI11* が関わるポストゴルジ・ネットワークの小胞輸送の分子ネットワークおよび高次機能を解析する為に、*zig-1* のサプレッサー変異体のスクリーニングを行い、更にその中の2つのサプレッサー株の詳細な解析を行った。結果は次の3つにまとめられる。

1) サプレッサーは16系統得られ、表現型から重力屈性と形態の双方の異常を回復させるサプレッサー群、重力屈性異常を強く回復させるサプレッサー群、形態異常を強く回復させるサプレッサー群に分ける事ができた。そして、小胞輸送に強く関与すると考えられる第一群の5系統をマッピングした。その結果、5系統がゲノム上の違う位置に存在する事が明らかになった。

2) 第一群に含まれる *zig suppressor 1* (*zip1*) を遺伝学的、生理学的に詳細に解析した。その結果、この変異は優性変異であり、この変異によって *zig* の示す重力屈性も形態異常もほぼ完全に回復している事を明らかにした。そして、原因遺伝子をマップに基づいてクローニングし、それが *VTI12* であると同定し、1アミノ酸置換が生じている事を示した。次に、*zip1* 変異がどのようなメカニズムで *zig* の表現型を回復させるのかを生化学的に解析した。その結果、野生株内で *ZIG/VTI11* と相互作用する *SYP22* が、変異株内で変異型 *VTI12^{ZIP1}* と相互作用していることを免疫沈降実験で明らかにした。また、GFP 融合タンパク質により *VTI12^{ZIP1}* が細胞内の局在を変える事も示した。この結果から、*zip1* 変異が *zig* 変異を抑圧したのは *VTI12* の細胞内局在および相互作用する相手が増えたことにより *VTI12* が *ZIG/VTI11* の機能を代替できるようになったためであると結論した。

3) 第一群に属す *zip2* についても遺伝学的、生理学的な解析を行い、この変異が劣性変異であり、*zig* の示す重力屈性異常も形態異常も部分的に回復する事を示した。次に、マップに基づいてクローニングを行い、*zip2* で出芽酵母 *VPS42* のホモログである *AtVPS41* に一塩基置換を見出した。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 新濱 充

真核生物の細胞内に存在する多種類のオルガネラはそれぞれ個体を維持するために固有の機能を担う。この為に、核内 DNA の情報に沿って産生されたタンパク質が各オルガネラに正確に輸送される必要が有る。小胞体、ゴルジ体、エンドソーム/液胞前区画、リソソーム/液胞、細胞膜間のタンパク質や膜の輸送は主に小胞輸送により行われる。小胞輸送過程にはさまざまな分子が関与しているが、輸送小胞膜と標的膜との特異的融合過程では SNARE と呼ばれる一群のタンパク質が重要な役割を果たしている。高等植物の小胞輸送研究はシロイヌナズナを中心に進んでいるが、動物も含めて多細胞系で個体レベルの高次機能と結びつけた知見は乏しい。申請者はシロイヌナズナの花茎重力屈性や形態形成で重要な働きをする SNARE VTI11 の欠損変異体 *zigzag(zig)* のサプレッサーを解析する事で、ZIG/VTI11 が関わるポストゴルジ・ネットワークの小胞輸送の分子ネットワークおよび高次機能を遺伝学的に解析することを目的とした。*zig* 変異体のもつ多面的表現型と原因遺伝子が SNARE をコードすることを考え合わせると、ZIG/VTI11 のもつ機能に関して、ZIG/VTI11 の関与する小胞輸送が正常な液胞の形成する過程 (①)、そして液胞の機能が重力屈性へ影響する過程 (②)、あるいは形態形成へ影響する過程 (③) に分ける事が期待できる。そして、重力屈性、形態の双方の異常を回復させるサプレッサーは過程①に、重力屈性異常を強く回復させるサプレッサーは過程②に、形態異常を強く回復させるサプレッサーは過程③に密接に関与すること予想できる。

本論文で次の4つの結果を得ている。1) 多数のサプレッサーを単離し、表現型でこれらは3種類に分類する事ができた。これにより、*zig* が示す多面的な形質を予想通り3つのカテゴリーに分ける事ができる事を示唆した。2) 得られたサプレッサーの1/3をマッピングした所、全て違う遺伝子座にマップされた。この事から、このスクリーニングで有用な多くの情報が得られる可能性を示唆した。3) サプレッサーの一つである *zip1(zig suppressor 1)* の原因遺伝子が、ZIG と相同な遺伝子に1アミノ酸置換を有する事を示し、この置換で SNARE の相互作用と局在を変化させる事を示した。4) *zip2* 変異株で *AtVPS41* に一塩基置換を見出した。

以上のように申請者は、植物のポストゴルジ・ネットワークの小胞輸送の分子ネットワークおよび高次機能に関する多くの新しい知見を明らかにした。特に相同性の高い SNARE タンパク質において一塩基置換により、細胞内局在及び相互作用する相手を変える事で個体レベルの高次機能まで回復させたという現象は他に類例を見ない興味深い知見である。これらの点から、この研究は学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士(バイオサイエンス)の学位論文として価値あるものと認めた。