

別紙 4

報告番号	※ 甲 第 号
------	---------

主 論 文 の 要 旨

論文題目 光合成に依存した細胞膜 H⁺-ATPase の
 活性制御機構の解析

氏 名 奥村 将樹

論 文 内 容 の 要 旨

植物の細胞膜 H⁺-ATPase は、ATP の加水分解エネルギーを利用して細胞内から細胞外へと H⁺を能動輸送する一次輸送体であり、細胞内外の pH 調節や膜電位の維持といった恒常性維持や、二次輸送体を介した物質輸送を制御する植物に必須の酵素である。維管束植物の細胞膜 H⁺-ATPase は、自身の C 末端から 2 番目のスレオニン残基 (Thr) のリン酸化とリン酸化部位への 14-3-3 タンパク質の結合によって活性化されることが知られている。しかし、陸上植物の進化的基部に位置するコケ植物では、細胞膜 H⁺-ATPase の構造や活性制御機構に関する機能解析は全く行われておらず、維管束植物と同様の活性制御機構が存在するか不明である。本研究では、コケ植物苔類ゼニゴケの細胞膜 H⁺-ATPase について EST データベースを検索し、維管束植物と同様の C 末端をもつ細胞膜 H⁺-ATPase が存在していることを明らかにした。さらに生化学的解析から、ゼニゴケにおいても細胞膜 H⁺-ATPase が C 末端から 2 番目の Thr のリン酸化を介して活性制御されることが示された。また、ゼニゴケ細胞膜 H⁺-ATPase のリン酸化を誘導する生理刺激として、光合成を誘導する光照射が非常に有効であることを見出した。この光合成に依存した細胞膜 H⁺-ATPase のリン酸化が維管束植物においても保存されているのか、光合成が細胞膜に局在する H⁺-ATPase のリン酸化を調節するメカニズムについては全く不明であった。そこで、維管束植物であるシロイヌナズナを用いて生化学的、免疫組織化学的解析を行い、光合成に依存した細胞膜 H⁺-ATPase のリン酸化が葉肉細胞で細胞自律的に誘導されていることを明らかにした。さらに、細胞膜 H⁺-ATPase のリン酸化状態を直接の指標にしたスクリーニングを行ったところ、*SUCROSE PROTON SYMPORTER 2 (SUC2)* 遺伝子の変異株、*suc2-7* が得られた。*suc2-7* は成熟葉において糖が高蓄積しており、H⁺-ATPase のリン酸化レベルも暗所においても高く維持されていた。また、ロゼット葉に糖処理を行うと、細胞膜 H⁺-ATPase のリン酸化が誘導された。さらに、光に応答した細胞膜 H⁺-ATPase リン酸化と糖蓄積のタイムコースから、スクロースの蓄積が細胞膜 H⁺-ATPase リン酸化のタイムコースと一致する

ことが示された。一方、光合成による糖合成が抑制される変異株 (*adg1-1 tpt-2*) では、光に応答した細胞膜 H^+ -ATPase のリン酸化が抑制されていた。これらの結果は、光合成に依存した細胞膜 H^+ -ATPase のリン酸化による活性制御機構は、コケ植物から維管束植物まで保存された生理応答であり、光合成によって作られた糖がこの応答を仲介していることを示している。