

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第 号
------	---------

氏 名 奥村 将樹

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

論文審査担当者

主 査 名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所
教授 博士(理学) 木下 俊 則

委 員 名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所
教授 博士(理学) 東 山 哲 也

委 員 名古屋大学大学院理学研究科
准教授 農学博士 吉 岡 泰

委 員 名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所
特任准教授 博士(農学) 中 道 範 人

論文審査の結果の要旨

別紙 1 - 2

植物の細胞膜 H^+ -ATPase (プロトンポンプ) は、P 型 ATPase に属し、ATP 加水分解エネルギーを利用して細胞内から細胞外へとプロトン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細胞の恒常性維持や、二次輸送体を介した物質輸送を制御することで、気孔の開口、細胞伸長、根における無機養分の取込み、維管束におけるショ糖の積み込みなど様々な生理応答に参与する。維管束植物の細胞膜プロトンポンプは、自身の C 末端から 2 番目のスレオニン残基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。一方で、緑藻の細胞膜プロトンポンプには、C 末端から 2 番目のスレオニン残基が存在せず、植物の進化のどの段階でリン酸化により制御される細胞膜プロトンポンプが出現したのかは不明であった。

申請者は、細胞膜プロトンポンプの構造や活性制御機構に関する機能解析が全く行われおらず、陸上植物の進化的基部に位置するコケ植物苔類ゼニゴケの細胞膜プロトンポンプについて、まず解析を行った。その結果、ゼニゴケは、維管束植物に見られる C 末端から 2 番目のスレオニン残基をもつプロトンポンプと、緑藻に見られる C 末端から 2 番目のスレオニン残基を持たないプロトンポンプの両方を持つことが明らかとなった。さらに、C 末端から 2 番目にスレオニン残基をもつプロトンポンプの生化学的解析を進め、光合成を引き起こす光照射がプロトンポンプのリン酸化を引き起こすことを初めて見出した。

次に申請者は、コケ植物ゼニゴケで見出された光合成に依存した細胞膜プロトンポンプのリン酸化が維管束植物においても保存されている現象かどうか、また、光合成がプロトンポンプのリン酸化を調節するシグナル伝達機構について、維管束植物であるシロイヌナズナを用いて進めた。その結果、光合成に依存したプロトンポンプのリン酸化を介した活性化は、維管束植物においても保存されている生理現象であり、葉肉細胞において細胞自律的に起きていることが明らかになった。さらに、シロイヌナズナの細胞膜プロトンポンプのリン酸化状態を指標にした突然変異体のスクリーニングを行い、暗所下においても細胞膜プロトンポンプのリン酸化レベルが高まった突然変異体を単離した。原因遺伝子の同定を進めた結果、*SUCROSE PROTON SYMPORTER 2* (*SUC2*) 遺伝子に一塩基置換が見出され、*suc2-7* と名付けた。*SUC2* は、維管束の篩部伴細胞において、細胞膜を介したプロトンの濃度勾配を利用し、プロトンとショ糖を細胞内に共輸送する輸送体で、光合成により合成されたショ糖を篩部に積み込む働きを担うことが知られている。そこで、*suc2-7* 変異体の成熟葉における糖含量を測定した結果、暗所においてもショ糖が葉に高濃度で蓄積していることがわかり、*suc2-7* 変異体におけるプロトンポンプの高いリン酸化レベルは、高濃度のショ糖がプロトンポンプのリン酸化を促進している可能性が示唆された。この可能性を調べるため、暗所下において葉のショ糖処理を行い、プロトンポンプのリン酸化が誘導されることを明らかにした。さらに、葉における光に応答した糖蓄積の時間変化を調べ、ショ糖の蓄積が細胞膜プロトンポンプのリン酸化のタイムコースと良く一致することを見出した。一方、光合成による糖の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プロトンポンプのリン酸化が抑制されていることを明らかにした。

以上の理由から、申請者は博士(理学)の学位を授与される十分な資格があるものと認められる。