

氏名(本籍)	きとうゆうこ 佐藤祐子(東京都)			
学位の種類	博士(理学)			
学位記番号	博乙第2529号			
学位授与年月日	平成23年1月31日			
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当			
審査研究科	生命環境科学研究科			
学位論文題目	Studies on the Functions of Sugar Monophosphatases in the Development of <i>Arabidopsis</i> (糖一リン酸脱リン酸化酵素のシロイヌナズナ個体発生における働きに関する研究)			
主査	筑波大学教授	理学博士	佐藤 忍	
副査	筑波大学教授	農学博士	中嶋 信美	
副査	筑波大学教授	理学博士	鎌田 博	
副査	筑波大学講師	博士(理学)	岩井 宏暁	

論文の内容の要旨

myo-イノシトールは、細胞膜リン脂質を構成する成分であるホスファチジルイノシトールの前駆物質で、植物においては細胞壁多糖の前駆物質でもあり、動植物ともに生命を維持する為に非常に重要な因子である。*myo*-イノシトールの合成経路は、グルコース6リン酸から *myo*-イノシトール1リン酸を経て生合成される経路と、ホスファチジルイノシトールから再合成される経路が知られているが、それらの合成の最終ステップに関与する酵素である *myo*-イノシトールモノフォスファターゼの植物における機能について、いまだ解明されていないことが多い。シロイヌナズナでは *VTC4* が、*myo*-イノシトールモノフォスファターゼと *L*-ガラクトースモノフォスファターゼの両方の活性を持つ酵素として報告されているが、さらに2種類の、*IMPL1* と *IMPL2* が *myo*-イノシトールモノフォスファターゼの候補として考えられている。そこで本研究では、これら3遺伝子 (*VTC4*, *IMPL1*, *IMPL2*) の解析を通して、シロイヌナズナの糖一リン酸脱リン酸化酵素の機能解明を試みた。

まず、それぞれの遺伝子の欠損植物体を用いて表現型の解析を行った結果、*IMPL2* の T-DNA 挿入遺伝子欠損植物体の種子においてのみ、ホモ個体が胚性致死となる事が示された。また、*VTC4* の T-DNA 挿入遺伝子欠損変異体ではホモ個体の胚性致死が起こらないことから、*IMPL2* が *VTC4* とは異なる他の酵素活性を持つ可能性が示唆された。近年 *Corynebacterium* の *myo*-イノシトールモノフォスファターゼと考えられる酵素がヒスチジン合成酵素の一つである事が報告され、*IMPL2* のアミノ酸配列は、この酵素と、*VTC4* や *IMPL1* よりも高い相同性を示した。そこで、*IMPL2* の T-DNA 挿入遺伝子欠損植物体にヒスチジンを添加したところ、胚性致死が相補される事が判明し、*IMPL2* が *myo*-イノシトール合成に加えヒスチジン合成にも関与する酵素である事が示唆された。

さらに、*VTC4*, *IMPL1*, *IMPL2* のそれぞれについてプロモーター::GUS 形質転換体を作成し、これらの遺伝子の組織特異的発現の解析を行った。その結果、いずれの遺伝子も植物体全体で発現しており、種子形成の初期段階では胚と胚乳の両方で発現し、組織レベルで大きな差異は見られなかった。

また、*VTC4*、*IMPL1*、*IMPL2*の遺伝子発現を定量的に解析した結果、いずれの遺伝子もほぼ同様の発現パターンを示すことが分かった。また、種子形成時におけるそれらの遺伝子の発現パターンは、ホスファチジルイノシトールから *myo*-イノシトールが再合成される際に関わる *SAL1* 遺伝子 (3'(2'),5'-bisphosphate nucleotidase/ inositol or phosphatidylinositol phosphatase) の発現パターンとよく一致していた。このことから、種子形成時において *VTC4*、*IMPL* は、グルコース 6 リン酸からの新規合成経路よりも、ホスファチジルイノシトールからの再合成経路 (サルベージ経路) に関与している事が示唆された。

以上の研究において、遺伝学的解析から、これまでに詳細な報告の無かった *VTC4*、*IMPL* 遺伝子の植物体における機能の一端が明らかとなり、特に *IMPL2* 遺伝子は、胚、種子形成の過程で必須であり、*myo*-イノシトール合成のみでなく、ヒスチジン合成にも関与する酵素であることが示唆された。また、遺伝子発現の解析から、種子形成時において *VTC4*、*IMPL* は、ホスファチジルイノシトールからの *myo*-イノシトールの再合成経路に関わっている可能性が示唆された。

審 査 の 結 果 の 要 旨

myo-イノシトールは細胞膜リン脂質を構成するホスファチジルイノシトールや細胞壁多糖の前駆物質として動植物にとって必須の因子であり、その生合成の最終ステップに関与する酵素である *myo*-イノシトールモノフォスファターゼは植物の生存に重要である。しかし、シロイヌナズナに存在する3種の糖-リン酸脱リン酸化酵素をコードすると考えられる遺伝子 (*VTC4*、*IMPL1*、*IMPL2*) の機能と発現様式はこれまで統一的には明らかにされていなかった。本研究は、それらの遺伝子の発現を欠いた植物体を解析することで、*IMPL2* が種子形成時に *myo*-イノシトール合成以外にヒスチジン合成にも関与することを明らかにするとともに、発現解析からそれらの遺伝子産物が *myo*-イノシトールの再合成系に関わっている可能性を示したものである。各々の遺伝子の組換えタンパク質を用いた酵素化学的解析はうまく行かなかったものの、本研究において、いままではっきりしていなかった *myo*-イノシトールモノフォスファターゼ遺伝子の機能と発現様式が、特に種子形成時において遺伝学的、分子生物学的に明らかにされたことは、植物に必須の代謝過程を理解する上で高く評価できる。

よって、著者は博士 (理学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。