

氏名	武 田 裕 一
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	理 学
学位授与番号	博甲第2281号
学位授与の日付	平成13年 9月30日
学位授与の要件	自然科学研究科生物資源科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文の題目	Transmembrane Topography of Plasma Membrane Constituents in Mung Bean (<i>Vigna radiata</i> L.) Hypocotyl Cells (ヤエナリ胚軸細胞原形質膜構成分子の膜の表と裏とにおけるトポグラフィー)
論文審査委員	教授 笠毛邦弘 教授 松本英明 教授 山本 泰

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

The transmembrane distribution of phospholipids (PLs) and the large scale asymmetry in surface (poly)peptides in the plasma membrane (PM) of mung bean (*Vigna radiata* L.) hypocotyl cells was investigated using annexin V-fluorescein isothiocyanate, porcine pancreas phospholipase A₂, and ³¹P-nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy, trypsin-, proteinase K- and 1 M KCl-treatments. Phosphatidylserine was not located on the cell surface of mung bean protoplasts. However, phosphatidylcholine, phosphatidylethanolamine and phosphatidic acid were found to almost symmetrically distribute across right-side-out PM vesicles obtained by aqueous two-phase partitioning by porcine pancreas phospholipase A₂ assay. ³¹P-NMR assay showed that the amount of PLs is about equal in the outer and the inner leaflets of the right-side-out PM vesicles. These results suggest that the topography of PM PLs might not contribute to well-known asymmetrical properties of the outer and inner surfaces of higher plant PMs.

On the other hand, the proteases only slightly reduced the protein content of right-side-out PM vesicles and treatment of right-side-out PM vesicles with 1 M KCl resulted in the dissociation of only a few peripheral proteins from the outer surface, indicating that less surface peptides including peripheral proteins existed on the outer surface. The hypothesis that sterols are asymmetrically distributed across higher plant PM was proposed based on experiments of the re-partitioning of surface peptides-removed endomembrane vesicles.

The author proposed that asymmetrical properties between the outer and the inner surfaces of plant PM derive, for the most part, from the inclination of bulk of surface peptides and presumably the asymmetric distribution of sterols, which should be considerably important for the separation of right-side-out PM vesicles by two-phase partitioning.

論文審査結果の要旨

生物の原形質膜は細胞の境界を形成しており、物質の輸送、情報の伝達など様々な生理反応に深く関与している。これらの現象は、膜に表と裏が存在する膜の非対称性に起因すると考えられている。このような膜の非対称性の研究は、赤血球膜を中心として動物細胞で行われてきているが、植物細胞を用いての研究はほとんどなされていなかった。

学位論文提出者は、1)植物細胞の原形質膜に非対称性は存在するのか、2)存在するとすれば、膜を形成している成分のどれが中心的な役割をするか、3)さらには動物原形質膜のそれらと比較した。

その結果、リン脂質においてはホスファチジルセリン (PS) は膜の内層 (細胞質側) にほとんど存在すること、ホスファチジルコリン (PC)、ホスファチジルエタノールアミン (PE) およびホスファチジン酸 (PA) は膜の内層と外層 (アポプラスト側) にほとんど等しく存在することを明らかにした。このことは動物原形質膜においては、PCやPEが外層に局在するのは大いに異なっていた。次に植物細胞において非対称性を決めている要因は何かを明らかにするために、表在性ペプチドとステロール類についてそれらの分布を調べたところ、これらはいずれも原形質膜表層に存在し、これらが植物の原形質膜の非対称性を決定する主要因であることを明らかにした。

またこれらの研究を進める過程の副次的結果として、原形質膜の単離に現在非常によく使用されているポリエチレングリコール (PEG) とデキストランを用いての二層分配法において、上層のPEG層にright-side-out小胞が局在するのは、従来言われているような膜の表面荷電によるものではなく、膜の表層に存在する表在ペプチドがほとんどない膜や、ステロールを多く含む膜が存在することに起因することを明らかにした。

これらの研究結果は、今まで報告されていない新しい知見であり、博士 (理学) を授与するに十分値する学位論文であると思われる。