

単細胞紅藻シアニジオシゾンにおけるグリセロ脂質代謝に関する研究

著者	毛利 奈津美
学位授与年月日	2018-03-22
URL	http://doi.org/10.15083/00077854

論文提出者氏名
毛利奈津美

毛利奈津美氏提出の博士論文「単細胞紅藻シアニジオシゾンにおけるグリセロ脂質代謝に関する研究」について、以下の通り審査を行ったので、その結果を報告する。

本博士論文は、紅藻の一種シアニジオシゾン/materialとして、グリセロ脂質の代謝に関する詳しい検討を行ったものである。第1章は序論であり、本研究の基礎となる植物と藻類におけるグリセロ脂質代謝の全体像を簡潔にまとめ、本研究の目的を述べている。第2章では、シアニジオシゾンの完全解読ゲノム配列情報に基づき、比較ゲノム解析によって、グリセロ脂質代謝系のすべての酵素の推定を行い、それらすべてについての細胞内局在解析の結果に基づいて、シアニジオシゾンのグリセロ脂質代謝系の全体像を提案している。第3章では、ゲノム配列が公開されている5種の紅藻の間での比較ゲノム解析により、紅藻のグリセロ脂質代謝系の特徴を推定している。第4章では、シアニジオシゾンの葉緑体を単離し、同位体標識によって脂肪酸合成と脂質合成の特徴を明らかにすると共に、第2章と第3章で得られた情報との対応から、紅藻のグリセロ脂質代謝系に関するさらに詳しい知見を得たことを述べている。最後の第5章では、第4章までで得られた知見に基づいて、紅藻のグリセロ脂質代謝系の特徴について総括している。

2000年のシロイヌナズナゲノム解読以来、植物や藻類のゲノム解読が進められ、それに基づく代謝系の比較も盛んに行われるようになった。紅藻についても、2004年に単細胞紅藻シアニジオシゾンのゲノム解読が行われ、2007年には、100%完全解読が達成されたことに加え、形質転換系の開発による逆遺伝学技術の普及により、研究材料として、植物と遜色ないものになってきている。一方で、紅藻に関する生化学的・代謝学的な知見はきわめて乏しく、20世紀後半に行われた大型海産紅藻についての同位体標識実験などの成果が主要なものであったが、2007年以降、シアニジオシゾンを用いた同位体標識実験や生化学実験により、詳細なデータが得られ始めた。しかしこの紅藻は単細胞の温泉藻という点で、実用となる海産藻類とはかなり異なるように思われ、シアニジオシゾンで得られたデータが紅藻一般にあてはまるのかどうかについて、明確ではなかった。しかし近年では、いくつかの海産紅藻のゲノム配列情報も利用できるようになり、それらとシアニジオシゾンとの比較や、植物・緑藻との比較も可能になってきた。本研究は、こうした状況を踏まえ、単細胞紅藻シアニジオシゾンが紅藻一般のモデルとして利用できることを示し、緑色植物・緑藻とは異なる紅藻に共通のグリセロ脂質代謝の特徴を明確に示した。

第2章ではシアニジオシゾンのゲノム情報に基づき、すでに脂質代謝についての詳しい情報が得られているシロイヌナズナ、クラミドモナス、2種のシアノバクテリアのそれぞれがもつ既知の脂質代謝酵素を元にして、シアニジオシゾンにおける対応する酵素124個を推定した。このうち色素体ゲノムにコードされているものを除く116個の酵素について、改変型緑色蛍光タンパク質(EGFP)との融合遺伝子を構築し、シアニジオシゾン細胞に形質転換を行った。一過性発現が見られた細胞を蛍光顕微鏡で観察し、それぞれの酵素が輸送される細胞内のオルガネラを推定した。この結果は、従来使われてきたタンパク質の細胞内局在解析ソフトウェアによる推定とはおおきく異なり、このため、紅藻に適した新たなソフトウェアの必要性が明らかになるとともに、今回の研究結果がこうしたソフトウェアの開発に役立つことも指摘している。このような局在推定の結果をまとめることにより、シアニジオシゾンにおける細胞内コンパートメントを考慮したグリセロ脂質代謝系の全容が提案された。その結果は、従来のソフトウェアに基づく推定とは大きく異なり、植物で知られているものと大きな違いはないことが判明した。

第3章では大型海産紅藻とシアニジオシゾンなどの単細胞温泉紅藻を含めた比較ゲノム解析を行い、前章で推定したグリセロ脂質代謝系の酵素がこれらの紅藻にも共通に存在することを明らかにした。その結果、緑色植物や緑藻とは異なる紅藻一般の脂質代謝の特徴として、脂肪酸合成酵素(縮合酵素)の種類が少ないこと、ホスファチジルコリン合成系がホスファチジルエタノールアミンのメチル化経路だけであること、不飽和脂肪酸の合成が小胞体で起こることなどが指摘された。

第4章では単離葉緑体を用いた同位体標識実験を行った。放射性酢酸を用いた実験では、脂肪酸合成が葉緑体で起きるものの、合成された産物はすべて飽和脂肪酸だけであること、また、その大

部分が葉緑体外に排出されることを示した。細胞では、葉緑体外に出た脂肪酸はその後小胞体で鎖長伸長と不飽和化を受けると推定された。また、放射性重曹を用いた実験では、植物の葉緑体とは異なり、糖脂質の極性基部分に標識が入ることを示し、従来知られていなかった UDP グルコース合成酵素が存在する可能性を示唆した。これらの結果は、安定同位体を用いた実験でも確認された。

第5章ではこれらの結果を基にして、シアニジオシゾンのグリセロ脂質代謝系についてまとめ、さらにこれが大型海産紅藻での脂質代謝にも適用可能な知見であることを証明した。

以上の研究結果は、学位申請者自身による独創性の高い研究であり、特に、比較ゲノム解析という情報的な部分と、タンパク質の細胞内局在解析や単離葉緑体における代謝実験という、専門性のきわめて高い実験的な部分を組み合わせた総合的な研究として高く評価される。

したがって、本審査委員会は博士（学術）の学位を授与するのにふさわしいものと認定する。