

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	車軸藻植物門 Klebsormidium flaccidum が持つ原始的な細胞外脂質に関する研究
Title(English)	
著者(和文)	近藤智
Author(English)	Satosi Kondo
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第10364号, 授与年月日:2016年10月31日, 学位の種別:課程博士, 審査員:太田 啓之,久堀 徹,田中 寛,増田 真二,下嶋 美恵,栗井 光一郎
Citation(English)	Degree:, Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第10364号, Conferred date:2016/10/31, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

論文審査の要旨及び審査員

(2000字程度)

報告番号	乙 第 号	学位申請者	近藤 智	
	氏 名	職 名	氏 名	職 名
論文審査員	主査 太田 啓之	教授	下嶋 美恵	准教授
	久堀 徹	教授	栗井 光一郎	学外審査員
	田中 寛	教授		
	増田 真二	准教授		

本論文は「車軸藻植物門*Klebsormidium flaccidum*が持つ原始的な細胞外脂質に関する研究」と題し、現存する陸上植物の起源と考えられている車軸藻植物門の中で初期に分岐したと考えられ、2014年にゲノム解読が終了した*Klebsormidium flaccidum*に着目し、*K. flaccidum*が細胞外にワックスを分泌すること、細胞壁に疎水性領域を持つことを示し、*K. flaccidum*が陸上植物のクチクラに相当する構造を持つことを明らかにしたものであり、4章から構成されている。

第1章では初めに車軸藻植物門の進化と特徴について説明した後、陸上植物に共通するタンパク質の機能獲得の観点から、*K. flaccidum*の祖先が基本的要素の多くを既に獲得していた可能性を説明している。次いで、植物が陸上で生育する上で乾燥を避けUV照射を回避するなど重要な役割を果たしているクチクラについて、その構造および構成成分であるワックスやクチンモノマーの合成経路、細胞外へ脂質を輸送するトランスポーター、クチンポリマー形成について、主としてシロイヌナズナにおける知見を説明している。気生藻類と呼ばれる*K. flaccidum*は陸上環境に適応した藻類の一種として知られているが、厳しい陸上環境で生存するためのクチクラ様構造の有無が不明であった。そのことから植物の陸上化のメカニズムを探る上で*K. flaccidum*の表層脂質を調べる意義を述べている。

第2章ではシロイヌナズナにおけるワックスおよびクチンモノマー合成経路、トランスポーターおよびクチンポリマー形成に関与するタンパク質のカウンターパートについて*K. flaccidum*のゲノムを探索し、シロイヌナズナおよび*Chlamydomonas reinhardtii*と比較した結果を示している。ワックス合成関連タンパク質群の探索から、*K. flaccidum*が炭素数20以上24以下の極長鎖脂肪酸を合成し得るが、シロイヌナズナが持つ1級アルコールとワックスエステル、アルカン、2級アルコール、ケトンを合成できないことを示唆している。また、*C. reinhardtii*のワックス合成についても*K. flaccidum*と同様の結果を示している。クチンモノマーについては、*K. flaccidum*が ω -ヒドロキシ酸のみ合成し得ることを示唆し、*C. reinhardtii*はクチンモノマーを合成できないことを示している。脂質トランスポーターについては、*K. flaccidum*と*C. reinhardtii*に、基質特異性が低いATP-binding cassette protein G11

(ABCG11/DSO)のカウンターパートが存在し、細胞内で合成されたワックス・クチンモノマーを細胞外へ輸送できることを示唆している。また、*K. flaccidum*には細胞外へ輸送されたクチンモノマーをクチクラでポリマー化するAt-CuS1のカウンターパートが存在し、クチンモノマーからポリマーを形成できることを示唆していると述べている。一方、*C. reinhardtii*はAt-CuS1のカウンターパートがなくクチンモノマーも合成できないことからクチン様構造が存在しないと推定している。

第3章では実際に*K. flaccidum*のワックスおよびクチンモノマーについて、GC-MSを用いて

分析した結果をシロイヌナズナおよび*C. reinhardtii*と比較している。シロイヌナズナのワックス抽出法に倣ったクロロホルムによるワックス抽出と併せて、細胞内の脂質の混入を避けるためシリカゲルプレートに転写し抽出する方法を試みている。クロロホルム抽出およびシリカゲルプレートへの転写による抽出の結果から、*K. flaccidum*に細胞外脂質が存在することを示している。同様に*K. flaccidum* よりも少ないが、*C. reinhardtii*にも細胞外脂質が存在することが示されたと結論している。またそれらの結果から、細胞外脂質は*K. flaccidum*、*C. reinhardtii*とも偶数アルカンであるドコサンとトリアシルグリセロール (TAG) より構成されていることを示していると述べている。さらに、クチンモノマー分析のため脱脂した細胞壁画分をアルカリ分解し分析した結果、*C. reinhardtii* と*K. flaccidum*はクチンポリマーをほとんど持たないが、*K. flaccidum*の細胞壁画分に脂肪酸が多量に結合していたことを示していること、この脂肪酸の細胞壁画分における結合様式を調べるためATR-FTIRを用いて分析した結果、*K. flaccidum*、*C. reinhardtii*ともにアミド結合を示すピークのみ見つかり、クチンに特徴的なエステル結合のピークが認められなかったことも示している。以上のことから、*K. flaccidum*はシロイヌナズナとは異なりアルカンとTAGを主とするワックスを持つこと、細胞壁の一部を構成するタンパク質にアミド結合した脂肪酸側鎖により疎水性環境を構成していると推定している。また、含有量は少ないが、*C. reinhardtii*についても同様の構造があることを示唆している。

第4章では、*K. flaccidum*のクチクラ構造について得られた結果を総括し、*K. flaccidum*では多糖で構成された細胞壁の外側にタンパク質からなる骨格があり、そのタンパク質に脂肪酸側鎖がアミド結合により存在していること、脂肪酸側鎖により作られた疎水性環境にアルカンやTAG、ステロールエステル、フィチルエステル、遊離ステロールといったワックスが充填されており、一部のアルカンとTAGは細胞表面に露出していると結論している。さらに、この脂肪酸側鎖による細胞壁の疎水性環境とアルカン、TAGを主としたワックスが原始的クチクラに相当する可能性を議論している。

以上を要するに、本論文は車軸藻植物門*K. flaccidum*のクチクラに相当する構造に着目し、細胞外脂質が存在し主としてアルカンとTAGで構成されること、細胞壁内に脂肪酸側鎖でできた疎水性環境が存在することを明らかにしたものであり、理学上貢献するところが大きい。よって、本論文は博士（理学）の学位論文として十分な価値があるものと認められる。