

論文 / 著書情報  
Article / Book Information

|                   |                                                                                                                                                                                             |
|-------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 題目(和文)            | 不等毛藻Nannochloropsis oceanicaにおけるベタイン脂質DGTSの生理機能と合成制御機構に関する研究                                                                                                                                |
| Title(English)    |                                                                                                                                                                                             |
| 著者(和文)            | 村上博紀                                                                                                                                                                                        |
| Author(English)   | Hiroki Murakami                                                                                                                                                                             |
| 出典(和文)            | 学位:博士(理学),<br>学位授与機関:東京工業大学,<br>報告番号:甲第11069号,<br>授与年月日:2019年3月26日,<br>学位の種別:課程博士,<br>審査員:太田 啓之,久堀 徹,下嶋 美恵,増田 真二,今村 壮輔,中村 信大                                                                |
| Citation(English) | Degree:Doctor (Science),<br>Conferring organization: Tokyo Institute of Technology,<br>Report number:甲第11069号,<br>Conferred date:2019/3/26,<br>Degree Type:Course doctor,<br>Examiner:,,,,, |
| 学位種別(和文)          | 博士論文                                                                                                                                                                                        |
| Category(English) | Doctoral Thesis                                                                                                                                                                             |
| 種別(和文)            | 論文要旨                                                                                                                                                                                        |
| Type(English)     | Summary                                                                                                                                                                                     |

# 論文要旨

## THESIS SUMMARY

|                                            |                |          |
|--------------------------------------------|----------------|----------|
| 系・コース：<br>Department of, Graduate major in | 生命理工学<br>生命理工学 | 系<br>コース |
| 学生氏名：<br>Student's Name                    | 村上 博紀          |          |

|                                           |                      |
|-------------------------------------------|----------------------|
| 申請学位 (専攻分野)：<br>Academic Degree Requested | 博士 (理学)<br>Doctor of |
| 指導教員 (主)：<br>Academic Supervisor(main)    | 太田 啓之                |
| 指導教員 (副)：<br>Academic Supervisor(sub)     | 下嶋 美恵                |

### 要旨 (和文 2000 字程度)

Thesis Summary (approx.2000 Japanese Characters )

ベタイン脂質 DGTS (diacylglyceryl-*N,N,N*-trimethylhomoserine) は、糖脂質とリン脂質に次ぐ極性グリセロ脂質のグループとして、細菌、原生生物、真菌類、藻類、基部陸上植物の生体膜に広く見出される。DGTS の蓄積量は一般に、リン飢餓に晒されることで増加する。この時、同時にリン脂質の割合が減少することから、DGTS はリン飢餓時にリン脂質の代替をする役割を持っていると考えられている。このようなリン飢餓に応答した生体膜脂質の質的な転換は、生物界に広く観察される代表的なリン欠乏への適応機構の一つであり、これにより生体膜から遊離のリン酸を獲得し、代謝系の恒常性を維持していると考えられる。一方、不等毛藻 *Nannochloropsis oceanica* において、DGTS はリン十分条件においても合成されており、さらに他のリン脂質と比較してエイコサペンタエン酸 (EPA) の含有量が顕著に高い。したがって、DGTS にはリン脂質を代替するだけでなく、特に多価不飽和脂肪酸の生理機能または代謝系に関係した何らかの役割があると推察される。そこで本研究では、不等毛藻 *N. oceanica* における DGTS の生理的・代謝的役割とその合成制御機構を解明することを目的とした。

まず初めに *N. oceanica* におけるベタイン脂質合成系に着目した。先行研究により同定された緑藻の DGTS 合成酵素 BTA1 と配列相同性の高いタンパク質を探索することで、*N. oceanica* において二つのタンパク質 BTA1L と BTA1S を見出した。DGTS はジアシルグリセロールから二つの反応ステップを経て生成されることが知られているが、アミノ酸配列の情報から BTA1L はその第一段階目の反応担うドメインと第二段階目の反応を担うドメインを併せ持ち、BTA1S は第二反応を触媒するドメインのみを保持すると予測された。実際にこれらの遺伝子欠損体および相補体の解析から、BTA1L と BTA1S はいずれも予測の通り DGTS の合成酵素として働くことが分かった。

続いて、DGTS 合成酵素 BTA1L の遺伝子欠損体 *bta1l* では DGTS が完全に欠失することに着目し、*bta1l* の表現型を解析した。*bta1l* は通常の生育条件ではベタイン脂質の合成能が正常なコントロール株と変わらない細胞生育を示す一方で、リン欠乏条件または低温条件生育下では、細胞増殖が著しく阻害されていることが明らかになった。すなわち、*N. oceanica* において DGTS はリン欠乏だけではなく、低温環境への適応にも重要な役割を担っていると考えられる。野生株において DGTS は EPA を多く含み、実際 DGTS の喪失により生体膜中の EPA の割合が低下する。EPA を含む多価不飽和脂肪酸は低温時の生体膜流動性の維持に寄与することから、*N. oceanica* において DGTS は生体膜への EPA の蓄積に重要であり、それにより低温環境での生育に貢献していると考えられる。

BTA1L と相同なタンパク質をゲノム情報が利用可能な藻類と陸上植物において探索し、type-B BTA1 と名付けた BTA1L 様タンパク質群を発見した。この時、ブラシノ藻とクロララクニオン藻の BTA1 ホモログと推定されるタンパク質のアミノ末端に、DGTS 合成活性ドメインに加えてさらにもう一つ別のドメイン様配列を見出した。*N. oceanica* におけるこの配列と相同なタンパク質 TLC1/TLC2 が DGTS の合成に関与しているかを明らかにするために、これらのタンパク質の機能を解析した。遺伝子欠損体の脂質解析から、TLC1 は EPA を一つ含む DGTS の蓄積に関与しており、TLC2 は EPA を二つ含む DGTS の蓄積に関与していることが示された。さらに緑色蛍光タンパク質を融合させたタンパク質の細胞内局在解析から、これらはいずれも小胞体に局在することが示唆された。その一方で、DGTS 合成酵素 BTA1L は油滴表層に局在するタンパク質と共局在する結果が得られた。これらのことから、TLC1、TLC2 は小胞体において DGTS 合成の基質の生成または供給に寄与する可能性が推察された。

様々な生物種を用いた研究から、リン欠乏時の DGTS の増加は合成酵素遺伝子の転写制御に依存していると考えられている。*N. oceanica* におけるリン欠乏時の DGTS の増加および膜脂質転換を制御する因子を同定するために、モデル生物において知られているリン欠乏応答のマスターレギュレーターと相同性を示す *N. oceanica* の転写因子に着目した。その内、*NPH1* と名付けた遺伝子を欠損させると、リン欠乏時に DGTS の増加および BTA1L 遺伝子の発現誘導が起らなくなることが分かった。したがって、*N. oceanica* においてリン欠乏時の膜脂質転換は *NPH1* の制御下にあることが明らかになった。

以上、本研究により *N. oceanica* における DGTS の生理機能と合成制御機構について新たな知見が見出された。

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note : Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).

(博士課程)  
Doctoral Program

## 論文要旨

THESIS SUMMARY

|                                            |                |          |                                          |                 |      |
|--------------------------------------------|----------------|----------|------------------------------------------|-----------------|------|
| 系・コース：<br>Department of, Graduate major in | 生命理工学<br>生命理工学 | 系<br>コース | 申請学位（専攻分野）：<br>Academic Degree Requested | 博士<br>Doctor of | （理学） |
| 学生氏名：<br>Student's Name                    | 村上 博紀          |          | 指導教員（主）：<br>Academic Supervisor(main)    | 太田 啓之           |      |
|                                            |                |          | 指導教員（副）：<br>Academic Supervisor(sub)     | 下嶋 美恵           |      |

要旨（英文 300 語程度）

Thesis Summary (approx.300 English Words )

Betaine lipids are a family of polar glycerolipids characterized by a phosphorus-free zwitterionic polar head group, which is connected to a diacylglycerol backbone *via* an ether linkage. In the most organisms, betaine lipids are believed to play a crucial role in adaptation to phosphorus starvation as surrogate lipids of a major phospholipid, phosphatidylcholine. However, in some species of algae including the stramenopile microalga *Nannochloropsis oceanica*, a betaine lipid diacylglycerol-*N,N,N*-trimethylhomoserine (DGTS) is abundant in eicosapentaenoic acid (EPA), which is relatively scarce in phosphatidylcholine, implying that DGTS has a unique physiological role. In this study, I addressed the role and biosynthetic mechanism of DGTS in *N. oceanica*. I identified and characterized two DGTS biosynthetic enzymes both of which have distinct domain configurations compared to previously identified DGTS synthases in other organisms. Phenotypic analyses of their gene knockout strains, which are completely deficient in DGTS biosynthesis revealed a pivotal role for DGTS in the adaptation not only to phosphorus deprivation but also to low temperature conditions. Typically, *N. oceanica* harbors three major molecular species of DGTS, namely containing two, one, or no 20-carbon (C20) acyl groups. Relative proportion of C20-free DGTS increased under phosphorus starvation, whereas that of C20-containing DGTS increased under low temperature, suggesting that the different molecular species may link up with different stress tolerance and are produced by each specific mechanism. In *N. oceanica*, I found two novel proteins that retain high sequence similarity to N-terminus region of prasinophyceae DGTS synthase homologs, and revealed their actual contribution to biosynthesis of C20-containing DGTS. Moreover, I identified a MYB-like transcription factor whose loss-of-function impairs upregulation of a DGTS synthase gene and increase in DGTS upon phosphorus starvation. Altogether, these results provide new insight into the physiological function of DGTS together with the molecular mechanism of its biosynthesis regulation in *N. oceanica*.

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note：Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).