

ラビリンチュラ類のDHA含有グリセロ脂質生合成機構に関する研究

奴田原, 枝利

<https://hdl.handle.net/2324/2236313>

出版情報：九州大学, 2018, 博士（農学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（3）



氏 名	奴田原 枝利			
論 文 名	ラビリンチュラ類の DHA 含有グリセロ脂質生合成機構に関する研究			
論文調査委員	主 査	九州大学	教授	伊東 信
	副 査	九州大学	教授	竹川 薫
	副 査	九州大学	准教授	沖野 望

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

ドコサヘキサエン酸 (DHA、C22:6n-3) は、海産稚子魚の生育に必須であるばかりでなく、ほ乳動物の神経系の発達、心血管疾患リスクの低減などの生理機能が認められる。本研究対象である海洋微生物ラビリンチュラ類は、海洋における DHA の一次生産者の 1 つであり、生合成した DHA をトリアシルグリセロール (TG) やホスファチジルコリン (PC) などのグリセロ脂質のアシル基として大量に保有するため、魚油を代替する DHA の新規供給源として有望視されている。ラビリンチュラ類は、DHA を 2 分子以上有する DHA-rich な TG や PC の含量が多いが、それらがどのように合成されるかはよく分かっていない。本研究はラビリンチュラ類の DHA 含有グリセロ脂質の生合成機構を解明することを目的としている。

最初に、リゾリン脂質アシルトランスフェラーゼのうち、ラビリンチュラ類の 1 種 *Aurantiochytrium limacinum* F26-b において発現量の高いことが確認された、PLAT2 と PLAT6 の機能解明を試みている。出芽酵母を用いた先行研究により、前者はグリセロール-3-リン酸 (G3P) の *sn*-1 位に脂肪酸を転移する G3P アシルトランスフェラーゼ (GPAT)、後者はリゾホスファチジン酸 (LPA) の *sn*-2 位に脂肪酸を転移する LPA アシルトランスフェラーゼ (LPAAT) と推定されている。

まず、F26-b 株を親株として PLAT2 遺伝子破壊 (KO) 株と過剰発現 (OE) 株を作製し、KO 株では GPAT 活性が低下、OE 株では上昇することを確認している。続いて、LC-MS を用いた解析により KO 株では DHA 含有 LPA 量が減少し、OE 株では逆に増加することを明らかにしている。続いて、ジアシルグリセロール (DG) の脂肪酸組成を解析し、KO 株では DHA 含有 DG が減少し、OE 株では増加することを示している。一方、飽和脂肪酸含有 DG 量はほとんど変化していない。DG 組成の変化を反映して、KO 株では DHA 含有 PC および TG が減少し、OE 株ではそれらが増加することを確認している。以上の結果は、PLAT2 が *in vivo* で主に DHA を G3P に転移し、DHA 含有 LPA を生成する GPAT として機能することを示している。

次に、PLAT2 と同様の手法で PLAT6 の KO 株と OE 株を作製し、KO 株では LPAAT 活性が低下、OE 株では上昇することを確認している。続いて、DG、PC、TG などのグリセロ脂質組成を LC-MS で解析し、KO 株では DHA 含有 DG の減少に伴って DHA 含有 PC や TG が減少する一方、OE 株ではそれらが増加していることを見いだしている。しかし、飽和脂肪酸含有 DG、PC、TG 量には顕著な変化は観察されていない。これらの結果から、PLAT6 は *in vivo* で主に DHA を LPA に転移し、DHA 含有 PA を生成する LPAAT として機能することを示している。

最後に、PA の脱リン酸化によって DG を生成する PA 脱リン酸化酵素 (PAP) として alPAP1 と alPAP2 の遺伝子を *A. limacinum* F26-b ゲノム DNA よりクローニングしている。大腸菌での発現解析の結果、alPAP1 のみが PAP 活性を有することを明らかにしている。

ラビリンチュラ類では、DHA を 2 分子以上持つ DHA-rich な PC や TG が多いことが他生物との大きな違いである。本研究は、このような DHA-rich なグリセロ脂質は *de novo* 合成経路において PLAT2 と PLAT6 の両方が DHA-CoA を基質とした時に生成されることを明らかにしている。

以上要するに、本研究は海洋微生物ラビリンチュラ類の DHA 含有グリセロ脂質、特に DHA-rich なグリセロ脂質の生合成機構を解明したものであり、脂質生物学ならびに海洋資源化学の発展に寄与する価値ある業績と認める。

よって、本研究者は博士（農学）の学位を得る資格を有するものと認める。