

ラビリンチュラ類におけるステロール糖脂質の代謝 と生理機能に関する研究

遠藤, 郁実

<https://hdl.handle.net/2324/4496115>

出版情報 : Kyushu University, 2021, 博士 (農学), 課程博士
バージョン :

権利関係 : Public access to the fulltext file is restricted for unavoidable reason (3)



氏 名	遠藤 郁実			
論 文 名	ラビリンチュラ類におけるステロール糖脂質の代謝と生理機能に関する研究			
論文調査委員	主 査	九州大学	准教授	沖野 望
	副 査	九州大学	名誉教授	伊東 信
	副 査	九州大学	教授	古屋 茂樹

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

海洋性真核微生物であるラビリンチュラ類はドコサヘキサエン酸等の n-3 系高度不飽和脂肪酸 (n-3PUFA) や n-3PUFA 含有グリセロ脂質の生産・蓄積性に優れていることから、産業微生物として注目されている。ラビリンチュラ類を産業微生物として活用するためには、脂質代謝を統合的に理解する必要があるが、グリセロ脂質以外の脂質の代謝に関する情報は少ない。本論文は、ラビリンチュラ類の一種である *Aurantiochytrium limacinum* mh0186 のステロール糖脂質の構造、代謝およびその生理機能に関する研究を取り纏めたものである。

まず、*A. limacinum* mh0186 における糖脂質の同定とその構造解析を試みている。mh0186 株に見出した主要な二種類の糖脂質 (GL-A, GL-B) を精製し、質量分析装置、核磁気共鳴装置等を用いて構造を解析した結果、GL-A と GL-B はともに、ステリル- β -グルコシド (β -SG) であり、GL-A は 3-O- β -D-glucopyranosyl-stigmasta-5,7,22-triene、GL-B は 3-O- β -D-glucopyranosyl-4 α -methyl-stigmasta-7,22-diene であることを明らかにしている。また、GL-B はステロール合成の中間体と考えられている C4 メチルステロール (C4MS) をアグリコン部位として有する新奇構造であった。

次に mh0186 株における β -SG 代謝酵素の同定を試みている。これまでに β -SG の合成酵素としては、UDP-glucose: sterol glucosyltransferase (SGT) が幅広い生物種で同定されている。*A. limacinum* のゲノムデータベースから SGT のホモログを探索し、7つの候補配列を得たので、これら遺伝子を出芽酵母を宿主として発現させ、その中の2つの配列 (AISGT-1, AISGT-2) が SGT 活性を示すことを明らかにしている。また、分子系統樹解析により、両酵素が新規の UDP-glycosyltransferase (UGT) であることを明らかにし、UGT 命名委員会から AISGT-1 と AISGT-2 にそれぞれ、UGT64A1 および UGT65A1 という登録番号を得ている。一方、AISGT-2 は、C4MS に対する高いグルコース転移活性を示したことから、GL-B 生合成の責任酵素である可能性が示された。さらに、 β -SG の分解酵素として、真菌類に広く見出されている Endoglycoceramidase-related Protein 2/Sterylglucosidase 1 (EGCrP2/SGH1) のホモログを *A. limacinum* のゲノムデータベースから探索し、AISGH1を見出すとともに、当該遺伝子を出芽酵母により発現させることで、AISGH1 に β -SG の分解活性を確認している。以上の結果は、*A. limacinum* が他生物と同様な経路で SG を代謝することを示している。

続いて、*alsgt-1* および *alsgt-2* 遺伝子の機能を解析している。*alsgt-1* および *alsgt-2* 遺伝子の単独あるいは二重欠損株 (Δ *alsgt-1*, Δ *alsgt-2*, Δ *alsgt-1/\Delta**alsgt-2* ; DKO) を作製して、脂質組成を解析した結果、 Δ *alsgt-1* 株の β -SG 量は変化しないが、 Δ *alsgt-2* 株と DKO 株では GL-B が消失し、それに伴って C4MS が増加することを見出している。また、 Δ *alsgt-2* 株に *alsgt-2* 遺伝子を発現させた変異復帰株では、GL-B の回復と C4MS の減少を確認している。これらの結果は、AISGT-2 が GL-B 合成の責

任酵素であることを示している。

最後に、AISGT-2 の生理機能を解析している。ステロール生合成関連酵素は活性発現に分子状酸素を要求するものが多い。そこで、異なる通気条件下で培養した mh0186 株の SG を分析し、酸素濃度の低下により GL-B 量が増加することを見出している。この結果は、低酸素条件下ではステロール生合成系の停滞によって増加した C4MS が AISGT-2 によって GL-B に変換されることを示すとともに、AISGT-2 が細胞内のステロール量のみならず、その合成中間体の量も適切に調節するという生理機能を有することを示唆している。

以上要するに、本研究は海洋微生物ラビリンチュラ類のステロール糖脂質の構造、代謝経路、並びに生理機能を解明したものであり、糖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。