

シロイヌナズナのLCBキナーゼ1 (LCBK1) におけるスフィンゴ脂質の代謝動態の解析

著者	柳川 大樹
学位名	博士(理学)
学位授与機関	甲南大学
学位授与年度	平成28年度(2016年度)
学位授与番号	34506甲第102号
URL	http://doi.org/10.14990/00002423

氏名・本籍	柳川 大樹（兵庫県）
学位の種類	博士（理学）
報告番号	甲第102号
学位授与の日付	平成29年3月31日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当者
論文題目	シロイヌナズナのLCBキナーゼ1（LCBK1）におけるスフィンゴ脂質の代謝動態の解析
審査委員	（主査） 教授 今井 博之 （副査） 教授 西村 いくこ （副査） 講師 武田 鋼二郎

論文内容の要旨

マイコトキシンの一つフモニシン B₁ (FB₁) を植物組織に処理すると、細胞死が観察される。また、FB₁ 処理によって、スフィンゴ脂質代謝産物である遊離の長鎖塩基 (LCB) が大量に蓄積することも知られている。一方植物は、LCB の蓄積を回避するために、LCB をリン酸化する巧みな代謝調節を働かせている。しかし、この代謝調節のメカニズムには未知の点が残されている。遊離の LCB は、LCB キナーゼ (LCBK) によって LCB-1-リン酸 (LCBP) に変換される。一方、LCBP は LCBP ホスファターゼ (SPP) により脱リン酸化されて LCB にリサイクルされるか、もしくは LCBP リアーゼ (DPL) により C₁₆ アルデヒドとホスホエタノールアミンに分解される。本研究では、モデル植物であるシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) を用いて、FB₁ で誘導される細胞死のレベルと、LCB および LCBP の量的関係性を、LCB のリン酸化代謝経路の制御メカニズムの観点から明らかにすることを目指し解析を行った。本研究では、シロイヌナズナ *LCBK1* 遺伝子に関する過剰発現株 (LCBK1-OX1、LCBK1-OX2) とノックダウン株 (LCBK1-KD1、LCBK1-KD2) を作製し、また、LCBP の分解系に関わるノックアウト株 (*dpl1*、*spp1*) を用いて、FB₁ 処理した際の細胞死の判定に基づく表現型解析と、LC-MS/MS による LCB および LCBP の定量分析を行った。まず、シロイヌナズナ実生において、LCBK1-OX1 は、野生株に比べて FB₁ に耐性を示し、LCBK1-KD1 では感受性を示すことを確認した。さらに、FB₁ で処理したロゼット葉において、LCBK1-KD1 および *dpl1* は、野生株に比べて死細胞が多く観察された。一方、LCBK1-OX1 および *spp1* ではほとんど死細胞が観察されなかった。LC-MS/MS 解析において、LCBK1-KD1 および *dpl1* では野生株と比較して、主にジヒドロスフィンゴシン (d18:0) が増加することが分かった。また、本研究では、植物に存在する微量 LCBP 分子種を LC-MS/MS によっ

て検出する方法を開発した。この方法によって、LCBPは *spp1* および *dpl1* において、野生株と比較して増加し、LCBK1-KD1 では減少することを明らかにした。これらの結果から、FB₁ によって誘導される細胞死は、d18:0 の蓄積と関連し、LCBP の代謝経路は、FB₁ 処理における LCB の蓄積を調節し、細胞死を制御するのに不可欠であることが示唆された。さらに、LCBK1 による LCB のリン酸化は、FB₁ 処理における LCBP の代謝動態に影響を与えることが示唆された。

審査結果の要旨

柳川大樹氏の研究は、植物の細胞死において、スフィンゴ脂質の分解系がどのように影響しているのかを明らかにすることを目的として行われた。スフィンゴ脂質代謝が関わる細胞死のうち、従来、スフィンゴ脂質の *de novo* 合成系の攪乱によって生じるとされていたものが、長鎖塩基 (LCB) のリン酸化というスフィンゴ脂質の分解経路によって調節されていることを示唆した。また、同氏の研究により、植物のスフィンゴ脂質クラスの中で最も微量とされる LCB -1-リン酸 (LCBP) を分子種レベルで定量する方法が開発され、植物における LCBP の機能研究に道を拓いた。

本研究の成果は、「21st International Symposium on Plant Lipids (2014 年、カナダ)」、「6th Asian Symposium on Plant Lipids (2015 年、シンガポール)」、「第 57 回日本植物生理学会年会 (2016 年、盛岡)」、「第 89 回日本生化学会大会 (2016 年、仙台)」、「第 29 回植物脂質シンポジウム (2016 年、大阪)」などで発表されている。また、成果の一部は、査読付の国際学術誌(副論文 1 編)に受理・掲載され、国内外において高い評価を受けている。

2017 年 1 月 27 日、甲南大学学位規程に従い公開講演を行い、本論文に関する説明と質疑応答を行った。申請者の説明は明快であり、応答内容も十分満足できるものであった。

以上により、審査委員は本論文提出者 (柳川大樹) が、博士課程の修了に必要な所定の単位を修得し、かつ、必要な研究指導を受け、博士論文の審査及び最終試験に合格したので、博士 (理学) の学位を授与せられるに充分なる資格をもつものであると認める。