

氏名	西原正照 にしはらまさてる
学位の種類	農学博士
学位記番号	農博第312号
学位授与の日付	昭和55年1月23日
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当
研究科・専攻	農学研究科農芸化学専攻
学位論文題目	Studies on the Phospholipid Molecular Species of <i>Escherichia coli</i> and <i>Glycine max</i> Cells in Culture (大腸菌およびダイズ培養細胞リン脂質分子種に関する研究)
論文調査委員	(主査) 教授 米澤大造 教授 鬼頭 誠 教授 駒野 徹

論 文 内 容 の 要 旨

生体膜を構成しているリン脂質の脂肪酸組成には、生物の種類や置かれた環境の違いによって多様な変化が見られる。このことは、膜の生理機能の保持と発現に重要な役割を果している膜の物理的状態が、リン脂質分子種のレベルで調節されていることを示唆している。本研究はまずリン脂質の分子種分析法を開発し、これを活用して大腸菌の分子種合成の調節機構とダイズ細胞の脱分化に伴う分子種組成の変化とについて調べたものであって、その主な内容はつぎのとおりである。

1. リン脂質のモノアセチルジアシルグリセロールへの転換、硝酸銀薄層クロマトグラフィー用溶媒系の開発などにより、簡便かつ確実に行える分子種分析の方法を確立した。

2. 大腸菌膜リン脂質の主要な成分であるホスファチジルエタノールアミンとホスファチジルグリセロールについてその分子種組成を調べ、これらが9種類の分子種から成っていることを明らかにした。ついで生育温度による分子種組成の変動を観察し、生育温度の低下に伴って1, 2-ジ不飽和分子種の量比が増し、1-飽和-2-不飽和および1, 2-ジ飽和分子種が減少することを認めると共に、分子種組成のこのような変化が温度変化に対応して速やかに行われることを、温度のソフトダウン実験を通じて示した。ついで各種分子種の合成速度を決定している要因を明らかにするために、野生株および不飽和脂肪酸要求変異株から分離した膜フラクションを用いて各種条件下で分子種合成を行わせた結果、sn-グリセロール-3-リン酸アシルトランスフェラーゼが分子種合成を決定する第一の要因であることを結論した。本酵素は基質である脂肪酸-CoA に対して幅広い特異性を有する一方、脂肪酸の相違により親和性を異にし、温度をアロステリックエフェクターとして親和性を変動した。またホスファチジルグリセロールによって活性化され、この活性化の程度はホスファチジルグリセロールの分子種によって異なっていた。本酵素のこれらの性質は膜より単離した可溶性酵素を用いて実証され、これにより本酵素が分子種合成を調節する機構がよく説明できた。

3. ダイズ種子の胚軸と子葉、およびこれらから脱分化させた細胞の主要リン脂質はホスファチジルコ

リン、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルイノシトールの3種であった。これらのリン脂質の分子種は大腸菌膜にくらべてはるかに複雑であり、胚軸と子葉とではその組成が異っていた。脱分化に伴って分子種組成は大きく変動したが、脱分化に伴って顕著に増大する分子種の種類は、胚軸由来の細胞と子葉由来の細胞とで異っていた。このことは脱分化という概念が複雑な要素から成り立っていることを示唆している。植物生長調節物質である2,4-ジクロロフェノキシ酢酸を与えた場合、どちらの培養細胞に対しても1-パルミトイル-2-リノレノイル分子種の増大という共通した変化をもたらした。

論文審査の結果の要旨

本研究は生体膜二重層を構成するリン脂質を分子種のレベルで解析し、膜の構造と機能がリン脂質分子種のレベルで調節されていることを究明したもので、以下の成果を収めている。

1. リン脂質をモノアセチルジグリセリドに転換した後、新たに考案した硝酸銀薄層クロマトグラフィーにより、リン脂質を分子種のレベルで分析定量する道を拓き、この分野の研究に画期的な発展をもたらした。

2. 上記の方法を用いて、大腸菌膜の主要リン脂質であるホスファチジルエタノールアミンとホスファチジルグリセロールとが9種類の分子種から成ることを初めて明らかにすると共に、これら分子種の割合が菌の生育温度に対応して変化する様相についても観察した。さらに、このような膜リン脂質の分子種構成を調節する機構について調べ、リン脂質分子種生合成の最初の段階である *sn*-グリセロール-3-リン酸のアシル化を触媒する酵素 *sn*-グリセロール-3-リン酸アシルトランスフェラーゼが分子種の生合成を調節する key enzyme であることをつきとめ、本酵素を膜から単離可溶化してその性質を調べている。特に本酵素が温度変化に対応してその触媒能を変化すること、本酵素がホスファチジルグリセロールにより特異的に活性化されること、この活性化がホスファチジルグリセロールの分子種によって異なること等を実証したことは、膜リン脂質分子種の調節機構を解明する上で極めて重要な発見であるといえる。

3. ダイズ種子の胚軸および子葉の細胞について、その主要なリン脂質であるホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルイノシトールが12種類の分子種から成ることを認めると共に、脱分化後の細胞ではこの分子種組成が大幅に変化していることを明らかにした。特に子葉細胞にはほとんど存在しない1-パルミトイル-2-リノレノイル分子種が脱分化細胞で非常に増加していることを見出したが、このことはこの分子種が培養細胞の膜機能の発現に重要な役割を演じることを示唆するものとして注目される。

以上のように、本論文はリン脂質を分子種レベルで研究することにより、最近注目をあびている生体膜の構造と機能に関する研究に対し重要な知見を加えたものであって、農芸化学の分野に貢献するところが大きい。

よって、本論文は農学博士の学位論文として価値あるものと認める。