

円石藻の超長鎖脂質アルケノン・アルケンの代謝と生理機能：明暗周期における組成変化からの解析

井原 希 (筑波大学 生物学類)

指導教員：白岩 善博 (筑波大学 生命環境系)

背景および目的

円石藻 *Emiliania huxleyi* は、ハプト植物門に属する海洋性の微細藻類であり、アルケノンと呼ばれる炭素数が 37~39 (C₃₇~C₃₉) で 1 つのケト基と *trans* 型の不飽和結合を持つ直鎖の超長鎖不飽和脂質を蓄積する。また、*E. huxleyi* はこの他に C₃₁ (*cis* 型)、C₃₃ (*cis-trans* 未決定)、C₃₇ (*trans* 型)、C₃₈ (*cis-trans* 未決定) の不飽和結合を持つ超長鎖のアルケンも合成する[1]。これらの超長鎖脂質は、その構造からバイオ燃料として有用な物質となり得ることが期待される。一方、これらの脂質の生理機能に関しては、膜脂質[2]や貯蔵脂質[3]であるとの報告があるが、生合成経路に関する知見は皆無である。

本研究では、これらの超長鎖脂質の生理機能の詳細や生合成経路を明らかにすることを目的に、*E. huxleyi* 4 株のアルケノン、アルケン、脂肪酸の比較解析を行い、更にその内の 1 株については、更に明暗条件による脂質組成変化を分析し、光合成や呼吸との関連を解析した。

材料および方法

比較解析では *E. huxleyi* CCMP2090 (南太平洋で単離された無菌株)、NIES837 (グレートバリアリーフ採集株)、RCC1217 (タスマン海採集株、n 体) および NIES2697 株 (タスマン海採集株、RCC1217 株の 2n 体) を使用した。

各 *E. huxleyi* 株を連続光 (100 μmol m⁻² s⁻¹。増殖と光合成の飽和光強度) 下で通気培養し、対数増殖期~定常期の細胞から脂質を抽出し、GC-FID を用い脂質の組成と量を測定して株間で比較した。温度は 25°C とした。

次に、CCMP2090 株を用いて、連続光下で定常期まで培養後、培養液を二分し、一方を暗所に移して培養した。細胞の回収後、脂質を抽出し、GC-FID を用い脂質の組成と量を測定した。回収した細胞の一部を、中性脂質を特異的に染色する Nile Red で染色し、アルケノンを含む中性脂質の細胞内局在、存在量を蛍光顕微鏡で観察した。

結果・考察

(1) 比較解析

全ての株でアルケノン (C₃₇~C₃₉)、アルケン (C₃₁, C₃₃) および脂肪酸 (C₁₄~C₂₄ 間の偶数) が検出された。また、種類と量において、株による顕著な違いはなかった。しかし、NIES837 株で C₂₉ アルケンが、RCC1217 と NIES2697 株では C₃₇ アルケンが株特異的に検出された。

細胞あたりの各脂質の蓄積量について、NIES837 株では総アルケノン量が 70% 以上で最も高い値を示した。他の株では、総アルケノンと総脂肪酸が同程度(40~50%)であり、総アルケン量はどの株でも 2~10% 程度であった。

以上より、*E. huxleyi* 株間では合成されるアルケンの分子種に多様性が存在することが明らかとなった。

(2) 明暗条件下での脂質の変化

細胞内総脂質蓄積量は、明条件下では細胞の生育に伴い増加した。定常期において暗条件に移行させたとき、3 日後では移行前の約 42% に減少した。総アルケノン、総アルケンおよび総脂肪酸量はそれぞれ移行時の約 24%、18% および 79% にまで減少した。しかし、GC-FID 解析パターンでは、暗条件で顕著に増加したピークは検出されず、代謝産物がガス化しない物質に変化した可能性がある。さらに、明条件で培養した細胞では、Nile Red 染色により Lipid Body (LB) と考えられる顆粒の蛍光が明瞭に観察されたが、暗条件に移行した細胞では消失した (図 1)。

アルケノンやアルケンの蓄積量が暗条件で顕著に減少したことから、分解系の存在が明らかとなった。さらに、LB 内の Nile Red ポジティブな中性脂質も暗条件で減少したことと併せ、アルケノンやアルケンは LB に蓄積されているエネルギー貯蔵脂質である可能性が極めて高い。その為、脂肪細胞の LB に存在する Acyl-CoA synthase[4] のように、アルケノンやアルケンの分解に関与する酵素も LB に局在する可能性が考えられる。

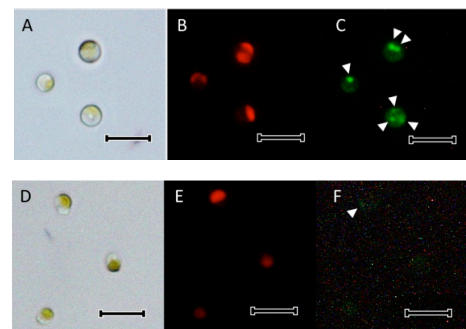


図 1：Nile Red 染色した *E. huxleyi* 細胞 (Bar=10 μm)

(A, B, C：コントロール、D, E, F：暗条件(72 時間))

(A, D：明視野、B, E：クロロフィル蛍光、C, F：Nile Red による蛍光。矢印：LB)

今後の展望

脂肪酸アシル CoA のようなガス化しない物質の検出も可能な LC/MS を用い、アルケノン代謝産物の同定を行う予定である。もし中間代謝産物が脂肪酸アシル CoA であれば、脂肪酸の代謝系である β 酸化がアルケノン代謝にも関与している可能性がある。この点に着目して研究を行い、最終的にはアルケノンの分解・細胞内利用に関わる代謝経路の全体像を明らかにし、ハプト藻に特異的な超長鎖脂質の生理機能を解明する。

参考文献

- [1] Rieley *et al.* (1998) *Lipids* 33, 617-625
- [2] Prahl *et al.* (1988) *Geochimica et Cosmochimica Acta* 52, 2303-2310
- [3] Epstein *et al.* (2001) *Organic Geochemistry* 32, 867-875
- [4] Brasaemle *et al.* (2004) *The Journal Of Biological Chemistry* 279, 46835-46842