

論文内容要旨

報告番号	甲 先 第 461 号	氏 名	高井 誠道
学位論文題目	植物組織のホモジナイズに伴う グリコシルイノシトールホスホセラミド分解の生理的意義		
<p>内容要旨</p> <p>グリコシルイノシトールホスホセラミド (GIPC) は植物スフィンゴ脂質の中で最も豊富で、総リン脂質の10%程度を占める。以前、我々はキャベツの葉をホモジナイズすると、GIPCが消失し、フィトセラミド1-リン酸 (PC1P) が出現することを見出した。この観察は、キャベツ組織に GIPCを加水分解するホスホリパーゼ D (PLD) が存在すること、その酵素活性の実体は NPC3 であることなど、GIPCの分解経路に関する知見を与えるきっかけとなった。今回、我々は TLCイメージングによるスフィンゴ脂質の定量法を開発し、植物組織のホモジナイズ前後におけるスフィンゴ脂質の組成変化を調べ、植物スフィンゴ脂質の分解経路を解析した。植物組織をホモジナイズすると、素早く脂質組成が変化する。このため、ホモジナイズ前の組成は煮沸により酵素を不活性化した植物組織を、ホモジナイズ後の組成は生の組織を用いた。ホモジナイズ後、1-ブタノールと水との分配によりスフィンゴ脂質を抽出し、得られた抽出液のメチルアミン/エタノール溶液処理によりアルカリ加水分解を行ない、TLCにより各スフィンゴ脂質を分離した。脂質をプリムリン/紫外線により発色させ、標準物質との発色強度の比較から定量を行った。質量分析による構造解析を併用し、GIPC、グルコシルセラミド (GluCer)、PC1Pおよびフィトセラミド (PCer) を分離する TLC系を作成した。プリムリン/紫外線による発色強度は、TLCにアプライした脂質量と直線関係にあることが確認され、既知量の標準品との発色強度比から目的スフィンゴ脂質を定量する解析系が開発できた。この系を用い、キャベツ (葉、莖)、ブロッコリー (根、莖)、ニンジン (根、葉)、イネ (根、葉) およびシロイヌナズナ (根、葉) のホモジナイズに伴うスフィンゴ脂質の組成変化を調べた。その結果、いずれの植物組織においてもホモジナイズに伴う GIPCの減少と PC1Pおよび PCerの上昇が確認されたが、その変化は、根で顕著であった。既に、GIPC分解酵素として NPC3 (PLD活性) および NPC4 (PLC活性) が同定されている。植物組織をホモジナイズすると、これらの酵素が活性化する可能性が考えられる。</p>			