

## 論文審査の結果の要旨

氏名 長野 稔

本論文は3章からなる。第1章は、シロイヌナズナのスフィンゴ脂質脂肪酸2-ヒドロキシラーゼ (FAH) ホモログの同定と機能について述べられている。これまで出芽酵母や哺乳類では同定され機能が特定されていた FAH であるが、シロイヌナズナを含めた植物ではほとんど報告がなかった。本論文では、まずシロイヌナズナの FAH ホモログが2因子 (AtFAH1 と AtFAH2) あり、両因子ともに膜結合性ヒドロキシラーゼ特有の HXXHH モチーフを有する小胞体 (ER) 膜タンパク質であることを示した。しかし、出芽酵母や哺乳類に共通して存在するシトクロム *b*<sub>5</sub> (Cb5) 様ドメインは AtFAH1 と AtFAH2 ともに存在していなかった。そこで本論文では、bimolecular fluorescence complementation (BiFC) 法を用いることで、AtFAH1 および AtFAH2 が ER 膜局在性のシロイヌナズナの Cb5 (AtCb5) と相互作用することを示している。また、出芽酵母 *fah1* 欠損株を用いた相補試験から、AtFAH1 および AtFAH2 が脂肪酸2-ヒドロキシラーゼ活性を有すること、およびその十分な活性には AtCb5 が必要であることを示している。さらに、シロイヌナズナの変異体を用いた解析から、AtFAH1 が炭素数20以上の超長鎖脂肪酸を、AtFAH2 がパルミチン酸を主に2-ヒドロキシル化することを見出している。この結果は、植物の FAH には基質特異性がある可能性を示す新奇の発見である。

第2章では、シロイヌナズナのスチレン耐性因子である AtBI-1 と2-ヒドロキシ脂肪酸、さらに酸化ストレスとの関係について述べられている。これまでに AtBI-1 が植物に酸化ストレス耐性を付与する因子であり、出芽酵母に導入した際の機能には *S. cerevisiae* FAH1 (ScFAH1) との相互作用が必要であることが示されていた。しかし、植物に酸化ストレス耐性を付与するメカニズムは未解明であった。本論文では、これまでの出芽酵母での結果と第1章での結果とを合わせて、シロイヌナズナでは AtBI-1 は AtCb5 を介して AtFAH と相互作用することで酸化ストレス耐性を付与するというモデルを立て、その検証を行っている。まず、AtBI-1 と2-ヒドロキシ脂肪酸の関係について、AtBI-1 形質転換体を用いた2-ヒドロキシ脂肪酸分析を行うことで、AtBI-1 が2-ヒドロキシ超長鎖脂肪酸合成を正に制御することを明らかにした。また、酸化ストレスに応答して増加する2-ヒドロキシ超長鎖脂肪酸の迅速な合成に AtBI-1 が関与していることを見出している。さらにこれらの結果は、AtBI-1 は超長鎖脂肪酸を2-ヒドロキシル化する AtFAH1 と優先的に相互作用することを示唆している。一方で、2-ヒドロキシ脂肪酸が酸化ストレス耐性を付与することについて、AtFAH1 及び AtFAH2 の変異体に対する耐性試験を行うことで示している。以上の解析結果は、上

述したモデルの正当性を示唆している。

第3章では、キャピラリー電気泳動質量分析装置 (CE-MS) を用いて AtFAH1 及び AtFAH2 の変異体の代謝物分析を行うことで、シロイヌナズナにおける 2-ヒドロキシ脂肪酸の生理学的機能と AtFAH1 と AtFAH2 の違いについて述べられている。本論文ではまず AtFAH1、つまり 2-ヒドロキシ超長鎖脂肪酸が酸化ストレス応答に関与することを代謝物分析からさらに強固に示している。また、AtFAH2、つまり 2-ヒドロキシパルミチン酸が好気呼吸の安定化に関与する可能性を見出している。これらの結果は、2-ヒドロキシ脂肪酸のシロイヌナズナにおける役割を示すとともに、2-ヒドロキシ脂肪酸の炭素鎖の長さによって関わる機能が異なることを表している。

なお、本論文第2章は、井原（大堀）由理博士、今井博之博士、稲田のりこ博士、藤本優博士、堤伸浩博士、内宮博文博士、川合真紀博士との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析および解析を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

以上の研究成果は、植物のスフィンゴ脂質脂肪酸 2-ヒドロキシラーゼの機能に関して初めての知見を与えるものであり、とくにそのストレス応答における役割を明らかにしたことは特記すべきことである。すでに論文の一部は、論文提出者が筆頭著者として国際誌に発表されている。したがって、ここに博士（理学）の学位を授与できると認めるものである。