

平成 28 年 8 月 1 日

生体膜の機能制御に関わる多様なスフィンゴ脂質分子を 一斉に定量分析する技術を確立

概要

スフィンゴ脂質は環境ストレス応答を初めとする情報伝達のプラットフォームとしてはたらく生体膜マイクロドメイン構造の形成に寄与しており、高ストレス耐性植物の分子育種標的として期待されている。しかしながら、植物には少なくとも数百種に及ぶ多様な構造をもつスフィンゴ脂質分子種が存在しており、その代謝系や個々の分子機能はまだよくわかっていない。理工学研究科の石川寿樹助教・川合真紀教授は、植物がもつ多様なスフィンゴ脂質分子種の構造を迅速に決定し、全分子種を網羅的に一斉定量分析する新技術を確立した。さらに多変量解析などの統計学的手法を組み合わせることにより、重要作物かつ単子葉モデル植物であるイネにおけるスフィンゴ脂質の組織特異的分布や、脂質合成異常変異体における代謝動態を定量的に捉えることに成功した。

本成果は、2016年7月25日に、英国科学誌The Plant JournalのTechnical Advancesオンライン速報版として公開された。

1 研究の背景

植物は外界の環境変化に適応する種々のメカニズムを発達させており、細胞膜を初めとする生体膜は、様々な環境ストレスを感知し適切な生理反応を誘導する場として重要な機能を担っている。近年、生体膜構成脂質の1種であるスフィンゴ脂質が、マイクロドメインと呼ばれる微小な膜構造の形成を介してストレス応答などの情報伝達に中心的な役割を果たしていることが明らかになってきており、高ストレス耐性植物の作出を目指した分子育種改変の新たな標的としてスフィンゴ脂質の重要性が注目されている。しかしながら、植物スフィンゴ脂質には少なくとも数百種に及ぶ多様な構造をもつ分子種が存在し、その分子機能を解明し代謝改変技術を開発するためには個々のスフィンゴ脂質分子種を網羅する分析技術が不可欠である。

2 研究内容と成果

石川助教・川合教授らは、単子葉モデル植物かつ重要作物であるイネを研究材料として、複雑な構造を有するスフィンゴ脂質分子種を簡便かつ高収率に単離精製する一連の分離操作系を確立し、それらの分子構造を質量分析計により決定する手法を構築した。これによりイネに存在するスフィンゴ脂質の全分子構造を網羅する理論ライブラリーを作成し、高速液体クロマトグラフィー質量分析計(LC-MS/MS)を用いて600種に及ぶ分子種の定量データを短時間内に網羅的に取得する分析系を確立した(図1)。さらに多変量解析により、得られた大規模な定量データから統計学的に有意な情報を抽出する方法が有効であることを示し、イネ組織間における分子種分布の多様性や、脂質合成異常変異体におけるスフィンゴ脂質代謝動態を包括的に捉えることに成功した(図2)。本研究は、東北大学大学院・農学研究科との共同研究の成果である。

3 今後の期待

様々な環境ストレス応答に寄与する機能性分子種や特定の標的分子構造の代謝改変技術の開発といった、今後の植物スフィンゴ脂質研究全般に貢献する基盤技術として期待される。

4 原論文情報

The Plant Journal Online, doi: 10.1111/tpj.13281

5 参考図又は写真等

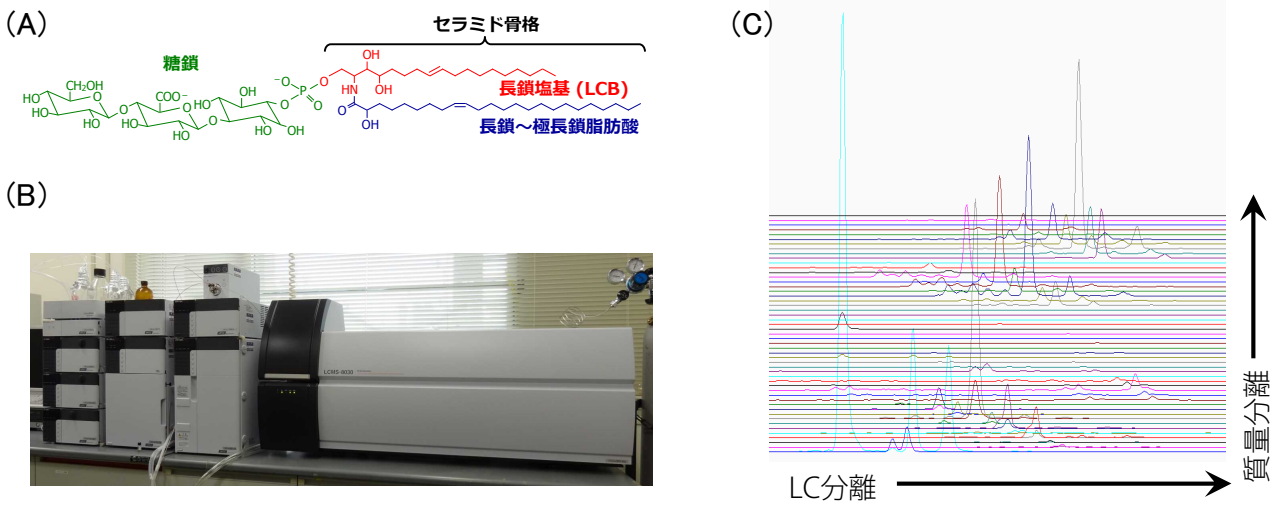


図1. 植物スフィンゴ脂質の構造とLC-MS/MSを用いた一斉定量解析

植物スフィンゴ脂質はセラミド骨格と糖鎖で構成される複合脂質で (A)、セラミドの化学構造や糖鎖が異なる多様な分子種が存在する。液体クロマトグラフ質量分析計 (LC-MS/MS, B) を用いた脂質分子種の特異的検出により、数百種に及ぶスフィンゴ脂質の混合物中の個々の分子種の存在量を高感度に定量することが可能となった (C)。

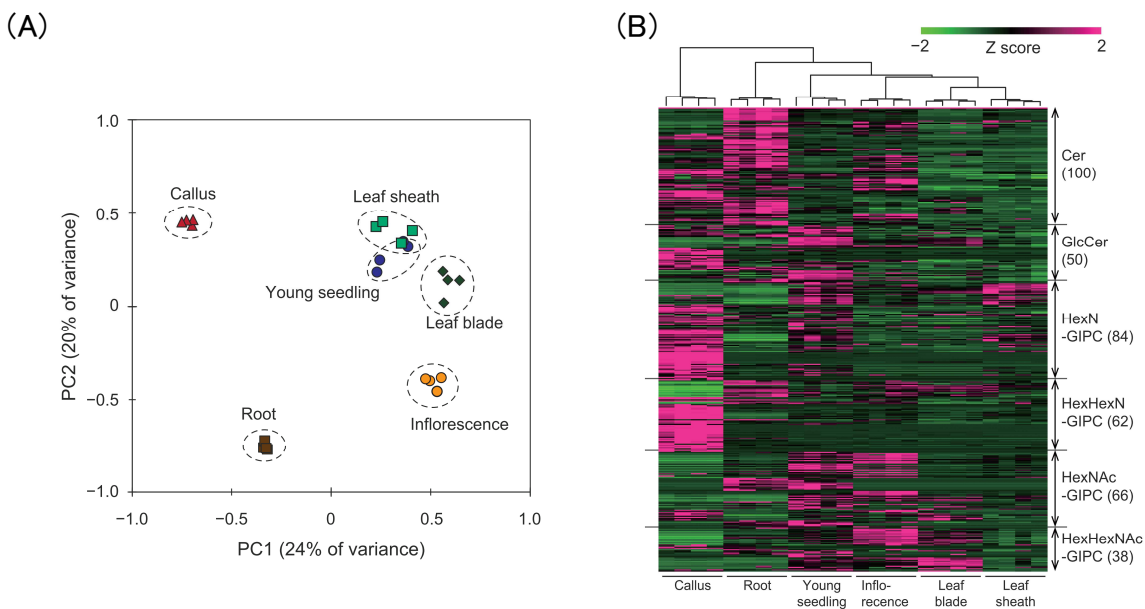


図2. スフィンゴ脂質定量データの多変量解析

様々なイネ組織を用いてスフィンゴ脂質分析を行い、得られた大規模定量データを多変量解析により評価した。(A) 主成分分析による組織間比較。(B) 階層的クラスター解析による脂質プロファイルの比較。これらの解析により、イネ組織間における脂質プロファイルの類似性や差異、さらに個々の分子の分布の特徴を視覚的に捉えることができる。

6 用語解説

スフィンゴ脂質:セラミド疎水構造を骨格とする脂質の総称。真核生物の生体膜中に普遍的に存在し、マイクロドメイン（後述）と呼ばれる特異構造を形成する。植物ではセラミド構造と親水性の頭部構造の多様性により少なくとも数百種以上の分子種が存在しており、分子構造に基づく多様な機能を果たしていると推測される。

生体膜マイクロドメイン:スフィンゴ脂質がステロールやある種のタンパク質と集合して形成する微小膜構造。環境ストレス応答における情報伝達のプラットフォームとして機能すると考えられている。

LC-MS/MS:高速液体クロマトグラフ（HPLC）により物質を化学的に分離し、さらにタンデム質量分析計（MS/MS）により物質の質量および構造に基づいた特異性の高い検出が可能。

理論ライブラリー:実験的に決定したスフィンゴ脂質の構造に基づき、植物細胞内に存在する全分子種の構造と質量情報を網羅したライブラリー。これにより、全ての分子種を標的とした特異的な検出システムを構築し、高感度・高精度な定量分析を可能とする。

7 発表者

理工学研究科・石川寿樹、川合真紀

※ 問い合わせ先

埼玉大学・大学院理工学研究科

担当教員 教授・川合真紀

TEL 048-858-9269

e-mail mkawai@mail.saitama-u.ac.jp