

氏名	富井健太郎
学位(専攻分野)	博士(理学)
学位記番号	理博第1988号
学位授与の日付	平成10年5月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	理学研究科生物科学専攻
学位論文題目	全ゲノム配列に基づくABC輸送系の比較解析

(主査)

論文調査委員 教授 金久 實 教授 宮田 隆 教授 西田 栄介

## 論文内容の要旨

ABC (ATP-binding cassette) 輸送系は、真正細菌から真核生物にまで至る幅広い生物種に存在し、細胞生活にとって極めて重要な膜能動輸送系である。また、この胞性繊維症や免疫系の抗原提示といった現象にも関与することが知られている。ABC輸送系の多くは、ATP結合タンパク質、膜タンパク質、および基質結合タンパク質の3要素から成り、それらの遺伝子はゲノム上でオペロン構造をとって転写制御を受けている。本論文では、全ゲノム配列が明らかにされた7種類の微生物ゲノム上で、ABC輸送系遺伝子のオペロン構造の比較解析および機能推定の結果が報告され、この系のオペロン進化に関する考察がなされている。

本論文ではまず、6種の真正細菌 *E. coli*, *H. influenzae*, *H. pylori*, *M. genitalium*, *M. pneumoniae*, *Synechocystis*, および1種の古細菌 *M. jannaschii* の全遺伝子リストから、ABC輸送系のATP結合タンパク質およびこれに類似したタンパク質全てを取り出し、種内および種間でのアミノ酸配列類似性の解析に基づいて分類を行い、ATP結合タンパク質の ortholog/paralog テーブルを構築した。次に各生物種のゲノム上で、ATP結合タンパク質をコードしている遺伝子の周辺遺伝子の保存性を、分類されたグループ内で解析した。この結果、一般にABC輸送系の遺伝子群は生物種を越えて、さらには生物界のドメインを越えて、ゲノム上で非常に強固に集積し、オペロン構造を保持する傾向の強いことが確認された。ただし、今回比較を行った7生物種の内、*Synechocystis* ゲノムでのみ、ABC輸送系オペロンの保存性が低下していることが見いだされた。

より詳細な解析の結果として、分類されたABC輸送系のATP結合タンパク質をコードしている遺伝子の近傍の遺伝子の保存性を、直系遺伝子関係だけでなくグループ内で解析することにより、新規のオペロン構成要素4種の発見が報告された。また本論文では、以下の点についての機能推定が示された。(1) *E. coli* の細胞分裂への関与が知られているオペロンの構成要素にも共有される、新規のアミノ酸配列モチーフを持つタンパク質の一群を同定した。(2) *E. coli* におけるシグナル伝達に関与すると考えられるタンパク質を同定した。(3) 細胞接着および細胞壁の構築への関与が示唆されるABC輸送系オペロンを同定した。(4) コバルト輸送系を推定した。(5) 輸送以外の機能を担うと考えられるATP結合タンパク質の一群も同定した。(6) Inteinを構成要素にもつオペロンを同定した。(7) 新規なABC-2型オペロンを同定した。(8) さらに、*E. coli* でのABC輸送系オペロンとべん毛遺伝子の発現制御との関連についても示された。

本論文の解析ではATP結合タンパク質の分類から出発したが、これが他の要素(膜タンパク質と基質結合タンパク質)の分類と非常に良く一致することから、各々のオペロンが一つの単位として進化してきたこと、および複数のグループのABC輸送系オペロンの起源が古細菌と真正細菌の分岐以前にさかのぼることが示唆された。さらに、他のグループの行った膜タンパク質や基質結合タンパク質の分類結果と本研究での分類結果とを組み合わせることで、主なABC輸送系オペロンの祖先型として7種類が推察されている。

## 論文審査の結果の要旨

ゲノム解析計画の進展に伴い、微生物から高等生物まで各生物種の全ゲノム配列データが蓄積されつつあるが、一方それらにコードされている1/3から半分の遺伝子の機能は未知のままであり、これを推定するためのコンピュータ解析法の重要性が高まっている。現在行われている主たる方法は、既存のデータベースに対するホモロジー検索である。そこでは配列の類似性のみを用いて機能推定を行うが、本論文はさらにゲノム上での位置情報をも考慮した点が、方法論の面での大きな特徴である。続々と異なる生物種のゲノム配列が明らかになり、ゲノム上で同一の転写制御を受けかつ機能的に関連していると思われる一群の遺伝子、つまりオペロンの情報が機能推定に重要であるとの認識が高まっている。本論文はこのような背景から、異なる生物種のゲノム間で系統的なオペロン構造の比較解析を行ったものである。具体的にはABC輸送系という特定の系で極めて精密な解析を行っている。

本論文で解析したのは、全ゲノム配列が明らかにされた7種類の微生物、すなわち真正細菌から6種 (*E.coli*, *H.influenzae*, *H.pylori*, *M.genitalium*, *M.pneumoniae*, *Synechocystis*) と、古細菌から1種 (*M.jannaschii*) である。これらを報告した原著論文でも、もちろんABC輸送系遺伝子の機能アサイメントがなされているが、本研究は個々の生物種においてオペロン構造を考慮した非常に精密な解析を行っていること、さらに重要な点として生物種間を越えた比較解析を行っていることから、原著者が発見できなかった多くの機能予測を行っていることが最も評価される。これらの予測については、最終的には実験で確かめられるべきものであるが、これまでのようにホモロジーだけで行っている予測に比べて、信頼性は格段に高いと考えられる。こうした本論文のオペロン探索手法は、これから益々さかんになっていくであろうゲノム配列の機能解析に、一つの有効な手段を提供したと言えるであろう。

また本論文では、分子進化に新しい見方を提供している。これまでの分子進化の考え方では遺伝子が単位であり、たとえば全ゲノム配列が分かっている真正細菌の比較解析から、直系遺伝子のゲノム上での配置は専らシャツフルされているという報告がある。これに対し本論文では、ABC輸送系のオペロン構造は生物種を越えて、さらには生物界のドメインを越えて、保存される傾向のあること、すなわちシャツフルされるのは遺伝子単位ではなく、転写単位であることを示唆している。ただし、*Synechocystis*でオペロン構造が壊れる傾向のあるは、事実としては興味深い、その生物学的な意味については不明のままである。高等生物ではオペロンが壊れるかわりに、遺伝子が融合して複数ドメインをもつ大きなタンパク質になる傾向もあり、実際*Synechocystis*のABC輸送系でもそのような例が見いだされている。今後の解析が期待される部分である。

さらに本論文では、ATP結合タンパク質によるABC輸送系の分類を、既に発表されている膜タンパク質および基質結合タンパク質による分類と比較することにより、7つのABC輸送系オペロンの祖先型を提案し、進化的な観点からの考察を行っている。

以上申請者の全ゲノム配列に基づくABC輸送系遺伝子の比較解析は、基礎的な成果としても実用的な価値も高く評価できる。よって、本論文は博士(理学)の学位論文として価値あるものと認める。なお、主論文および参考論文に報告されている研究業績に関連した試問の結果、合格と認めた。