

京都大学	博士 (生命科学)	氏名	谷 泰史
論文題目	糸状菌に由来する新奇なネオガラ系列中性スフィンゴ糖脂質の構造解析に関する研究		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>真核微生物の細胞膜に存在するスフィンゴ糖脂質は生命維持に重要な構成成分であり、担子菌類(キノコなど)や子囊菌類(酵母や糸状菌など)の細胞膜を構成する主要な糖脂質は脂質セラミドにイノシトールとリン脂質が結合したイノシトールリン酸セラミド(Inositolphosphoceramide: IPC)を基本骨格とした酸性糖脂質である。しかし、ケカビやクモノスカビなどの接合菌類の細胞膜を構成する糖脂質はIPCが全く存在せず、脂質のフィトセラミドにガラクトース (Gal) が多数結合した中性糖脂質であることが見出されている。</p> <p>本研究では接合菌類がIPCの生合成に関わる酵素であるIPC synthaseを阻害する抗生物質Aureobasidin A (AbA) に対して耐性であるという事実に基づいて、AbA耐性の糸状菌には新奇な糖脂質が存在する可能性があるかと推察し、AbA耐性の不完全菌類 (子囊菌類に分類されている) の糖脂質を解析するとともにそれらの機能の解明を試みた。真菌類の生育を阻害するAbAの存在下でさまざまな不完全菌類の生育を調べた結果、線虫寄生菌<i>Hirsutella rhossiliensis</i>の生育が全く阻害されないことを見出した。さらに、この糸状菌の糖脂質を薄層クロマトグラフィーによって解析した結果、AbAによって抑制されるIPC生合成経路の中間体である酸性糖脂質がほとんど見出されず、グルコシルセラミドを含む中性糖脂質が多数見出された。そこで、これらの中性糖脂質の構造を明らかにするために、メチル化分析、マトリックス支援レーザー脱離イオン化法 (MALDI-TOF/MS)、プロトン核磁気共鳴分光法 (<math>^1\text{H-NMR}</math>) により構成糖、脂肪酸および長鎖塩基を分析した。その結果、これらの中性糖脂質はネオガラ系列の基本的な糖鎖構造 (Gal<math>\beta</math>1-6Gal<math>\beta</math>1-Cer、Cer: セラミド) を有していることが明らかになった。さらに非還元末端にマンノース (Man) およびグルコース (Glc) を含有する3種類の新奇な糖脂質を含むことが解明された。それらの新奇な中性糖脂質の構造は次のような構造であることを明らかにした: Man<math>\alpha</math>1-3 Gal<math>\beta</math>1-6 Gal<math>\beta</math>1-6 Gal<math>\beta</math>1-Cer、Glc<math>\alpha</math>1-2 Gal<math>\beta</math>1-6 Gal<math>\beta</math>1-6 Gal<math>\beta</math>1-Cer、Man<math>\alpha</math>1-3 Gal<math>\beta</math>1-6 (Glc<math>\alpha</math>1-4) Gal<math>\beta</math>1-6 Gal<math>\beta</math>1-Cer。セラミドの組成は、脂肪酸部分が主に飽和脂肪酸 (h24:0) であり、長鎖塩基は主にt18:0長鎖塩基またはt18:1長鎖塩基であった。一方、グルコシルセラミドのセラミドの長鎖塩基はd18:2長鎖塩基およびd19:2長鎖塩基であった。これらの結果により、<i>H. rhossiliensis</i>にはIPC合成経路とは全く異なる糖脂質の生合成経路が存在し、新奇なネオガラ系列中性糖脂質の生合成経路の存在が示唆された。すなわち、ガラクトシルセラミドからGal<math>\beta</math>1-6 Gal<math>\beta</math>1-Cer<math>\rightarrow</math> Gal<math>\beta</math>1 -6 Gal<math>\beta</math>1-6 Gal<math>\beta</math>1-Cer<math>\rightarrow</math> Man<math>\alpha</math>1 -3 Gal<math>\beta</math>1-6 Gal<math>\beta</math>1-6 Gal<math>\beta</math>1-CerまたはGlc<math>\alpha</math>1-2 Gal<math>\beta</math>1-6 Gal<math>\beta</math>1-6 Gal<math>\beta</math>1-Cerと生合成され、前者はさらにMan<math>\alpha</math>1-3 Gal<math>\beta</math>1-6 (Glc<math>\alpha</math>1-4) Gal<math>\beta</math>1-6 Gal<math>\beta</math>1-Cerへ合成が進むことが示唆された。このような中性糖脂質の糖鎖は、線虫などの宿主に含まれている糖脂質および糖タンパク質の糖鎖構造と類似するために、宿主の免疫機構を回避するような役割を担っていることが推察される。</p>			

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

真核微生物である糸状菌や酵母などはその細胞壁の構成成分が主としてキチンあるいはグルカンであり、それぞれ異なっていることが知られているが、細胞膜の構成成分はほとんど同じであると考えられていた。しかし、最近、ケカビ (*Mucor* 属) やクモノスカビ (*Rhizopus* 属) を含む接合菌類の細胞膜には、他の真菌類と異なって、スフィンゴ糖脂質であるイノシトールリン酸セラミド (IPC) が全く存在せず、ガラクトース (Gal) が多数結合した中性糖脂質が存在することが見出された。本研究は接合菌類がIPCの生合成に関わる酵素IPC synthaseを阻害する抗生物質Aureobasidin A (AbA) に対して耐性であることに着目し、AbAに対する耐性菌には新奇な糖脂質が存在する可能性があるという観点から、AbAに耐性な真核微生物の細胞膜を構成する糖脂質の構造や機能、その生合成経路を明らかにしようとした研究である。

本論文の著者は子囊菌類から初めてAbA耐性菌*Hirsutella rhossiliensis*を見出した。さらに、糖脂質を解析することによって、AbAに耐性を示す要因は接合菌類と同様にIPCが全く存在せず、その代わりに中性糖脂質が存在することを見出した。その詳細な構造解析を行った結果、接合菌類とは異なる構造の中性糖脂質、つまり非還元末端にマンノース (Man) およびグルコース (Glc) を有する3種類の新奇な中性糖脂質 (Man $\alpha$ 1-3 Gal $\beta$ 1-6 Gal $\beta$ 1-6 Gal $\beta$ 1-Cer、Glc $\alpha$ 1-2 Gal $\beta$ 1-6 Gal $\beta$ 1-6 Gal $\beta$ 1-Cer、Man $\alpha$ 1-3 Gal $\beta$ 1-6 (Glc $\alpha$ 1-4) Gal $\beta$ 1-6 Gal $\beta$ 1-Cer) を含むネオガラ系列の中性糖脂質であることを明らかにするとともに、その生合成経路を推察した。このような糸状菌の複雑な中性糖脂質の構造解析に関する研究成果は少なく、本研究はAbA耐性糸状菌の耐性要因が細胞膜の糖脂質の構造によることを明らかにした点で評価できる。さらに、糖脂質の構造を緻密に解析した点も評価することができる。

本研究の結果より、線虫寄生菌*Hirsutella rhossiliensis*の糖脂質は新奇な構造を有する糖脂質である故に、これまで糸状菌や酵母などの真菌類では見出されない新たな機能を有している可能性が考えられる。すなわち、このような中性糖脂質の糖鎖構造は、線虫などの宿主に含まれている糖脂質および糖タンパク質の糖鎖構造と類似しており、宿主の免疫機構を回避するような役割を担っていることが推察される。さらに、宿主への糸状菌の感染の関係が本研究によって明らかになれば、新たな抗真菌薬の開発も可能となる。

よって本論文は博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認めた。なお、平成22年1月25日、論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日