

氏 名	みの 實 輪 洋 介
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	理 博 第 3214 号
学位授与の日付	平 成 19 年 11 月 26 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	微生物ゲノムにコードされるポリケチド・非リボソーム型ペプチド構造 モチーフの網羅的解析

論文調査委員	(主 査) 教 授 金 久 實 教 授 藤 吉 好 則 教 授 梅 田 眞 郷
--------	--

論 文 内 容 の 要 旨

近年、化合物との相互作用情報に基づいて未知のゲノム情報に意味付けを行うことを目的とした、ケミカルゲノミクスと呼ばれる研究分野が注目を浴びている。特に、天然化合物は非常に多様な構造と機能を持つことから重要視されており、バイオプローブや医薬品のリード化合物としても期待されている。これら天然化合物の構造は生合成経路にコードされているが、非常に複雑であるため、現状ではごく一部が解読されているに過ぎない。一方、天然化合物の化学構造と機能についてはその有用性から長年にわたる知識の蓄積がある。このような背景の下、近年次々と生み出される新しいゲノムに対して化学的な情報によるアノテーションを行うことは、ゲノム情報の解明に非常に有効な手段となると期待される。本研究では、天然化合物の中でも主要なクラスであるポリケチド (PolyKetide; PK) と非リボソーム型ペプチド (Non-Ribosomal Peptide; NRP) に注目し、ケミカルゲノミクス解析のための新しい方法論の開発を試みた。

まず、申請者は天然化合物を合成する微生物ゲノムのアノテーションを目的として、微生物ゲノムにコードされる PK/NRP の化学構造を高精度に予測する手法を開発した。PK/NRP はそれぞれ、ポリケチド合成酵素 (PolyKetide Synthase; PKS) ・非リボソーム型ペプチド合成酵素 (Non-Ribosomal Peptide Synthetase; NRPS) によって合成される。ここでは、PKS/NRPS の特異的な基質 (ユニット) 認識に関わるドメインと酵素間相互作用に関わるドメインのアミノ酸配列を抽出し、配列相同性の解析から、どのような基質が選択され、どのようにそれらを組み合わせて高次化学構造が作られるのかを予測している。この手法を4,529個のPKS/NRPSに適用した結果、619個のPK/NRP分子構造が予測された。また、これらの新規化合物の機能を推定するために、1,449個の実験的に構造が決定されているPK/NRPを文献より収集し、予測された化合物との構造比較を行った。この際、高次化合物構造を効率的に比較し、化合物構造のモチーフを抽出するために、PK/NRPの構造をユニットの配列として表記し、スミス-ウォーターマン・アルゴリズムを用いて構造比較を行った。その結果、併せて約2,000個の化合物構造は271個のクラスターに分類され、その中から生物活性と有意に相関する構造モチーフが33個見つかった。さらに、申請者は特に *Pseudomonas* 属と *Burkholderia* 属から予測された13個の新規PK/NRPに注目し、構造モチーフによる機能アノテーションを行い、病原因子と推定される化合物を見出した。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文では、微生物ゲノム配列からのポリケチド・非リボソーム型ペプチド化合物の構造予測と、構造既知化合物との構造比較による予測化合物の機能推定を行っている。まず、化合物の構造予測については、合成酵素の基質特異性予測と酵素間相互作用予測に基づく新規手法の開発を行っている。このようなポリケチド・非リボソーム型ペプチド合成酵素の基質特異性については今までにも数例の報告がなされているが、その多くはより以前に報告された機能アミノ酸残基との比較に基づくものである。一方、本論文の手法は、近年急速に増加している基質特異性既知酵素の配列から、基質特異性と有意に相関するアミノ酸残基を新たに抽出し、またそれらのHMMプロファイルを用いて未知の基質特異性を予測する新しい手法で

あり、予測精度の大幅な向上を達成している。また、酵素間相互作用予測についても、先行研究ではゲノム上での酵素遺伝子の隣接関係の情報のみに頼る単純な方法である、本論文では、近年明らかにされてきた酵素間相互作用に関わるアミノ酸配列領域の情報を併せて予測に用いることによって、今までは予測することが出来なかった酵素間相互作用とそれによって規定される合成経路の予測を可能にした。このように、非常に高精度な酵素機能の予測手法を開発することによって、ゲノムスケールで網羅的に化合物構造を予測することを可能にした。

また、構造既知化合物との構造比較による予測化合物の機能推定については、化合物構造比較法を新規に開発している。解析対象とする化合物がポリマーであることから、ここではタンパク質配列などの配列比較用アルゴリズムを導入することによって、既存の小分子化合物構造比較法と比べて非常に高速な方法の開発に成功している。それにより、数千、数万単位の大量の化合物構造データの全対全比較のように、非常に時間の掛かる計算処理を、極めて短時間で行うことを可能にした。このことは、PK/NRPのような巨大な分子種の解析には特に有用であると考えられる。本論文における全対全の化学構造比較の結果からは、多くの新規骨格を持つ化合物が多様な生物種からもたらされる可能性が示唆されており、非常に興味深い。また、構造類似化合物クラスターから、その機能と有意に相関する部分構造モチーフを抽出し、新規に予測された化合物の中から、微生物の病原性に関与すると推測される化合物を見出している。

このように、本論文で新規に開発された手法とそれによって得られた知見は、新規化合物の構造予測と機能推定だけでなく、新規化合物の人工的なデザインにも有用であり、貴重な研究結果であることが伺える。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。また、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。