

氏 名	樋 作 好 之
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	理 博 第 3066 号
学位授与の日付	平 成 18 年 3 月 23 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	糖鎖構造の網羅的比較解析と構造モチーフ抽出

論文調査委員 (主 査) 教 授 金 久 實 教 授 森 和 俊 教 授 藤 吉 好 則

論 文 内 容 の 要 旨

申請者はバイオインフォマティクスにより糖鎖構造を比較する手法、及び糖鎖の生物学的機能に関わる特徴的な部分構造(モチーフ)を抽出する手法の開発を行った。申請者が新規に開発した糖鎖構造比較法はこれまで DNA やタンパク質の比較解析に使われた手法を拡張したもので、とくに生体内での糖鎖合成反応を考慮した比較手法である。すなわち、糖鎖構造は DNA やタンパク質の配列とは異なり枝分かれをしたツリー構造であること、テンプレートに基づく合成ではなく基質特異性をもった多数の糖転移酵素による合成であること、糖鎖構造の根元にある保存されたコア領域及び末端のバリエーション領域の存在といった生物学的事実を考慮した。申請者は3連結単糖(トライマー)による構造比較法を考案し、これを用いて異なるグループに属する糖鎖構造を判別するため、糖鎖構造の全対全の類似度計算を行い、類似度スコア行列を作成した。このスコア行列をサポートベクターマシンにおけるカーネルとして用いることで糖鎖構造分類手法を確立した。さらにサポートベクターマシンの判別得点を用いて、グループに特徴的な糖鎖モチーフ構造を抽出する手法を開発した。

具体的な解析として、まず白血病細胞を含む4つの血液成分(leukemia, erythrocyte, serum, plasma)由来の糖鎖構造に、今回開発した比較手法を適用した。クロスバリデーションによる分類性能の評価の結果、4つの血液成分由来の糖鎖構造を80~90%の高い精度で分類できることがわかった。これは各血液成分がそれぞれに特徴的な糖鎖構造を持っていることを示唆している。そこで各血液成分グループに対して糖鎖構造モチーフ抽出法を適用したところ、白血病細胞から α -D-Neup5Ac-(2 $\rightarrow$ 3)- β -D-Galp-(1 $\rightarrow$ 4)-D-GlcpNAcという特徴的な部分構造が見いだされた。この結果を実験的に検証するため、*Agrocybe cylindracea* 由来ガレクチンタンパク質を用いた実験を行っている。このガレクチンタンパク質は上記の構造を特異的に認識して結合することが既に知られていたため、これをマーカーとして白血病細胞が特異的に識別できるかを細胞凝集実験により確かめた。その結果、このガレクチンタンパク質はT細胞由来、B細胞由来の様々な白血病細胞に対して特異的な凝集能を示した。この実験結果は白血病由来の細胞が細胞種に依らず上記の部分的糖鎖構造を特徴的に持つことを示唆しており、情報解析による予測と一致した。

もう1つの解析として、生物種間における糖鎖構造の比較と特徴構造抽出を行った。まず糖鎖構造データベース KEGG/GLYCAN から9種の生物種(human, mouse, rat, bovine, pig, chicken, yeast, sycamore, wheat)由来の糖鎖構造を取得し、分類を行った。クロスバリデーションによって分類性能を評価したところ、それぞれ80.6, 79.5, 78.6, 74.0, 83.6, 84.2, 89.7, 91.8, 95.0%の高い分類能を示した。またマウスに特徴的として抽出された構造が、過去の実験で報告されている糖鎖部分構造と一致した。以上のように本論文では、申請者が開発した糖鎖構造の情報解析手法が、実験データの生物学的意味解釈に有用であることが示されている。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

糖鎖は核酸、タンパク質に次ぐ第3の生命鎖と呼ばれており、細胞間認識、接着、発生、分化、がん化などの高次の生命

現象において重要な役割を果たすことが知られている。一方、糖鎖構造の複雑さやデータベースの不備等により、糖鎖を情報学的に解析した研究例は非常に限られている。申請者の論文では、糖鎖の構造比較手法の開発を通じて構造分類と特徴構造（モチーフ）抽出を行っている。ここでは論文の内容を、情報学的手法の開発結果と実際の生物学的問題での解析結果から評価を行った。

申請者が行った糖鎖構造分類は機械学習法的一种であるサポートベクターマシンを用いることで実現している。サポートベクターマシンを用いたサンプル分類には、カーネルと呼ばれるサンプル間距離を表すスコア関数を決定する必要があるが、申請者は糖鎖構造間の類似度を、糖鎖構造上の場所を考慮した3連結単糖の集合で表現し、サンプル間の類似度スコア行列を決定している。この方法を異なるヒト血液成分由来の糖鎖構造、及び異なる生物種由来の糖鎖構造のデータに対して適用し、高い分類能を持つことを示した。申請者の提案した手法が一定の成果をあげていると認められる。

また、申請者はサポートベクターマシンにおいて算出される判別得点を利用し、特定のグループに属する糖鎖構造がもつ特徴的な部分構造（モチーフ）の抽出を行った。サポートベクターマシンで糖鎖のモチーフ構造抽出を行った研究例はこれまで無く、独自性が認められる。

さらに、申請者は情報解析で得られたモチーフ構造に対して、実験データとの比較を行うことで、予測の妥当性の検討を行った。ヒト白血病細胞に特徴的な糖鎖モチーフ構造は、実際にレクチンタンパク質で認識される特徴構造であることを細胞凝集実験によって検証した。マウス由来糖鎖から抽出したモチーフ構造は、過去の研究例で実験的に得られた特徴構造と一致した。これらにより申請者が提案したモチーフ構造抽出手法で生物的に意味のある結果が得られたと認めることができる。

申請者が行った一連の糖鎖構造情報解析研究は今後重要性が増すと考えられる比較グライコミクスに繋がる先駆的な研究であり、基礎的な研究成果としても応用的側面においても高く評価できる。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。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。