

(続紙 1)

京都大学	博士（薬科学）	氏名	田中 道廣
論文題目	真核生物ゲノムの多様性とリン脂質分子種の関連解析		
（論文内容の要旨） リン脂質分子は細胞膜の主要成分であると同時に、脂質メディエーターの前駆体として、免疫、炎症反応など幅広い生理機能に関与している。脂質メディエーターは、様々な受容体に作用するシグナル分子としての機能を持つ脂質の総称であり、その多くは、リン脂質と結合した不飽和脂肪酸が切り出された後、いくつかの酵素反応を経て合成される。したがって、リン脂質中にどのような脂肪酸が結合しているかを理解することは、脂質メディエーターを介したシグナル伝達系を理解する上で重要である。しかし、リン脂質合成系で働く酵素、特にグリセロール骨格に結合する水溶性頭部と脂肪酸の組み合わせを決める酵素は、主にマウスやヒトなどの限定された生物種でのみ報告されており、生物種網羅的な解析はほとんど行われていない。本研究の目的は、脂質メディエーターの多様性と真核生物ゲノムの多様性との関係を明らかにするための第一段階として、その出発点であるリン脂質の多様性とゲノムの多様性との関係を明らかにすることである。 本研究では、リン脂質合成系において、脂肪酸をグリセロール骨格に取り込むアシル基転移酵素に着目し、真核生物ゲノムでの多様性を解析した。アシル基転移酵素が働く経路としては、水溶性頭部を持たないグリセロール骨格に脂肪酸を取り込む <i>de novo</i> 経路と、水溶性頭部を持つグリセロール骨格に脂肪酸を取り込むリモデリング経路の二つが報告されている。そこで、これらの経路で働くアシル基転移酵素を文献から抽出し、それらのアミノ酸配列を問い合わせ配列にした PSI-BLAST を用いて、89種の真核生物ゲノムから網羅的に本酵素の候補を探索した。その結果を配列類似性に基づいてクラスタリングし、28個の配列グループに分類した。既知の実験データを参考にしながら、各配列グループに脂肪酸種（脂肪酸長、不飽和度）と水溶性頭部（コリン、イノシトールなど）の基質特異性を割り当てた結果、脂肪酸として脂質メディエーター前駆体の多価不飽和脂肪酸であるアラキドン酸、水溶性頭部としてコリン、エタノールアミン、セリン、イノシトールを持つリン脂質の組み合わせが動物種でのみ保存されていることなどを明らかにした。次に、この結果を橋本らがゲノムレベルで予測した不飽和脂肪酸構造の生物種分布と比較した結果、両者がよく対応することを明らかにした。また、得られた配列群の系統解析から、不飽和脂肪酸の取り込みに使われるリモデリング経路で働く酵素が動物系統で重複していること、さらにその中に脊椎動物のみで保存されている配列サブグループが存在することを示し、脂質メディエーターの利用と脊椎動物群への進化との関連を示唆する結果を得た。			

(論文審査の結果の要旨)

リン脂質は細胞膜を構成する分子として、すべての生物種で共通に利用されている。一方で、リン脂質分子には多様な種類があり、細胞の種類、生物種によってその組成が異なることも知られている。この多様性が存在する理由の一つに、脂質メディエーター前駆体として多様なリン脂質分子が必要なことがあげられる。また、リン脂質合成系は一連の酵素反応によって構成されており、各生物種のリン脂質多様性はゲノムによってコードされていると考えることができる。本論文では、免疫や炎症反応など幅広い生理機能を持つ脂質メディエーターの多様性を明らかにするために、その前駆体であるリン脂質の多様性をゲノムから明らかにしようと試みており、以下の二つの成果をあげている。

一つ目は、ゲノムの知識とゲノムに直接コードされていない生体分子の一つである脂質分子種とを関連づけたことである。ゲノムプロジェクトで得られる遺伝子の機能は、通常、BLASTなどのホモロジー検索で推定されるが、これではよく似た遺伝子ファミリーからなる遺伝子群の詳細な機能推定は難しい。本論文で着目したアシル基転移酵素も大きな遺伝子ファミリーを構成しており、ホモロジー検索だけではその基質特異性まで明らかにすることは困難である。そこで、本論文では、89種の真核生物種から網羅的に探索したアシル基転移酵素をクラスタリングし、系統解析することにより、配列サブグループを作成し、各サブグループにリン脂質の脂肪酸種（脂肪酸長、不飽和度）、水溶性頭部（コリン、エタノールアミンなど）の基質特異性を割り当てた。これにより、各生物種が合成可能なリン脂質分子種をゲノムから予測できるようになると期待できる。また、既に報告されている不飽和脂肪酸の合成に関するゲノム解析結果が、本論文での結果とよく対応することも明らかにしており、ゲノムからのリン脂質分子種の予測という応用可能性へのサポートとなっている。

二つ目の成果は、アシル基転移酵素の系統解析により、どの生物種群でリン脂質分子種の多様性を増やしてきたかについての洞察を得られたことである。本論文では、脂肪酸として脂質メディエーター前駆体の多価不飽和脂肪酸であるアラキドン酸、水溶性頭部としてコリン、エタノールアミン、セリン、イノシトールを持つリン脂質の組み合わせが動物種でのみ保存されていることを明らかにした。また、不飽和脂肪酸の取り込みに使われるリモデリング経路で働く酵素が動物系統で重複していること、さらにその中に脊椎動物のみで保存されている配列サブグループが存在することも明らかにした。このことは、脊椎動物群でのリン脂質分子種の多様化を示しており、脂質メディエーターの利用との関連を示唆する結果といえる。

このように、免疫や炎症反応に関わる脂質メディエーターの前駆体であるリン脂質の合成可能性をゲノムレベルで解析し、リン脂質の構造多様性とゲノム多様性の関係を網羅的に解析した例はなく、本研究の成果は、今後の脂質メディエーターの生理機能解析に有用な情報を提供するものと考ええる。

よって本論文は博士（薬科学）の学位論文として価値あるものと認める。

さらに、平成22年 2月23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： 平成 年 月 日以降