

氏 名	吉 沢 明 康
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	論 理 博 第 1490 号
学位授与の日付	平 成 19 年 5 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学 位 論 文 題 目	SNARE 蛋白質からの配列モチーフ抽出と SNARE 依存小胞輸送系の進化的特徴

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

真核細胞の小胞輸送は、蛋白質や脂質などの高分子の輸送に不可欠の機能であり、真核細胞の生存に必須である。SNARE 蛋白質は細胞内小器官などに局在して、決まった相手の SNARE 蛋白質同士で結合することによって、輸送小胞の膜融合と、輸送小胞が正しい目的地とのみ膜融合するようにソーティングする役割の両方を担っている。また、その局在場所に応じて、生物種を超えて配列に類似性があることが知られている。しかしソーティングの特異性が SNARE 蛋白質のアミノ酸配列に拠っているのかどうかについては、まだ確定的な結論は得られていない。更に、SNARE 相同配列には配列が大きく違っているものがあるため、BLAST を用いた通常の検索では相同配列かどうかの判定が難しいことが多い。

本論文ではまず、遠縁の類似配列を収集するのに向いた PSI-BLAST と、通常の BLAST よりも感度が高くなることが原理的に明らかな階層型クラスター解析を組み合わせ、更に既知の SNARE 蛋白質の局在情報をクラスター解析の閾値に利用することによって、データベースから SNARE 蛋白質相同配列を網羅的に収集・分類する方法を開発している。

次にこの方法によって、主にゲノムが決定された真核生物種48種について、SNARE 相同配列を網羅的に決定、細胞内部位または輸送経路毎に分類し、これらの分類に依存した、即ち細胞内部位または輸送経路特異的な43個の配列モチーフを発見している。

これらの配列モチーフは、いずれも SNARE 蛋白質の機能部位として知られている「SNARE ドメイン」の中から発見されたものであるが、その事実から、SNARE 蛋白質のオルガネラ特異性は配列情報として保存されていることを確認している。またこれらのモチーフ領域から作成した隠れマルコフモデル (HMM) プロファイルが、既知の SNARE 蛋白質には全て高いスコアを与えるのに対し、SNARE ではないと既に判っている蛋白質に対しては一切高スコアを与えないので、非常に簡便に「細胞内のどの部位でどのように働いている SNARE か」を判定する、アノテーションツールとして利用することができることを述べている。更に、これらの HMM プロファイルで解析対象データを探索し、分類しきれなかった少数の配列まで、全ての SNARE 候補配列を分類している。

これに引き続き、この分類に基づいて、これらの生物の細胞内部位・輸送経路毎に、SNARE 相同配列数を比較した結果、幾つかの SNARE 蛋白質が界 (kingdom) に特異的であることを見出すとともに、今までは別の種類とみなされてきた SNARE 蛋白質同士 (Syntaxin 6 と AtSyp6、或いは Syntaxin 8 と AtSyp5 など) が、同一種類の SNARE の界特異的アイソフォームであることを示唆している。

また、相同配列の数が進化過程でどのように変化するかを比較した結果、真核進化の過程で SNARE のパラログ数、即ちバリエーションは徐々に増加するだけであるが、脊椎動物と高等植物になった段階では、細胞膜周辺 SNARE 蛋白質のパラログ数だけが急激に増加することを見出している。

論文審査の結果の要旨

真核細胞の小胞輸送は細胞の生存に必須であり、細胞生物学に於いても重要な研究テーマである。特に今日のように多数の真核細胞のゲノム配列が決定されつつある時代に於いては、この分野に対しても、情報生物学的なアプローチの必要性が論じられるようになってきている。

このような背景のもと、申請者が行った解析では、小胞輸送で一つの中核的役割を担う SNARE 蛋白質について、配列解析に基づく網羅的な分析が為されている。

まず相同配列の探索では、通常のパライズ相同性検索よりも感度が高いことが期待される、階層型クラスター解析を用い、計算量を減らすためにその前処理として PSI-BLAST 検索を組み合わせている。この手法によって、従来行われてきた他の研究手法よりも高い感度を達成している。このような解析の結果、SNARE 蛋白質の細胞内局在位置・輸送経路毎に SNARE 蛋白質は43種類に分類されることが分かったが、これほど詳細に SNARE 蛋白質を配列面から機能分類した研究は、今までに例がない。このクラスター解析の結果得られた配列は、隠れマルコフモデル (HMM) プロファイルの学習に用いられており、このため、本論文で作成された HMM プロファイルは、簡便に利用できると同時に非常に高い感度を持つに至っている。HMM プロファイルの性能評価の結果、これらのプロファイルは、SNARE 蛋白質の機能を推定する極めて実用的・効率的なツールであることが示されており、申請者が構築した解析手法の有効性について、一定の成果をあげていることが認められる。

次に、申請者は、上記の SNARE 蛋白質分類を用いて、全ゲノム配列が決定された生物種全て (48生物種) について、それぞれの生物種が保有する SNARE 蛋白質の機能分類を行うとともに、SNARE 蛋白質の倍数化の進化的な変遷を調べている。生物種の数・分類の詳細さの両方の点について、このような解析も過去に例を見ない。この解析の結果としては、高等動物や高等植物において、細胞膜周辺に局在する SNARE 蛋白質の倍数化が生じていることなど、全く新しい知見を導くことができています。このような申請者が行った解析は、細胞生物学の重要な問題について有益かつ興味深い結果をもたらしており、小胞輸送の分子機構と細胞内膜系の進化の両方の分野に於いて、今後の研究の基盤として用い得るものである。

以上のように、本研究の成果は基礎的な研究としても、また実用的な観点からも高く評価できる。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、論文内容とそれに関連した事項についての試問の結果、合格と認めた。