

論文審査の結果の要旨

論文提出者氏名 氏原哲朗

多価不飽和脂肪酸としてよく知られているドコサヘキサエン酸 (DHA)、エイコサペンタエン酸 (EPA)、アラキドン酸 (ARA) は、極長鎖 (炭素数 20 以上) の脂肪酸に複数の二重結合を持つ脂肪酸である。これらの多価不飽和脂肪酸は、生体内において重要な機能を担っているが、ヒトはこれらの多価不飽和脂肪酸を体内で十分に合成することができないため、DHA と EPA を含む魚や、ARA を含む肉や卵などを摂取することによって不足分を補給する必要がある。しかし、食品から十分量を補うことは難しく、微生物などを用いて効率的かつ大量に生産する方法の開発が望まれている。

多価不飽和脂肪酸は、好気経路と多価不飽和脂肪酸合成酵素による経路によって合成されることが知られている。前者では飽和脂肪酸が、鎖伸長酵素による複数の伸長反応と不飽和化酵素による不飽和化反応によって多価不飽和脂肪酸が合成される。一方、後者ではマルチサブユニット型複合酵素である多価不飽和脂肪酸合成酵素により、中間体を遊離することなく多価不飽和脂肪酸が合成され、不飽和化反応に酸素や還元力を必要としない。したがって、微生物を利用して DHA などの多価不飽和脂肪酸を生産しようとする場合、多価不飽和脂肪酸合成酵素による経路を利用した方が、好気経路に比べて有利である。これまでの研究において、EPA や DHA を合成する多価不飽和脂肪酸合成酵素の遺伝子が同定され、それらを用いた EPA や DHA の生産方法の開発が進んでいる。しかし、ARA については、その生合成に関わっている多価不飽和脂肪酸合成酵素の遺伝子が未だ同定されておらず、ARA の生産にはその酵素の遺伝子を新たに探索する必要があった。そこで、本博士論文では ARA を多価不飽和脂肪酸合成酵素によって合成しているバクテリアを探索し、そのバクテリアのゲノム解析を行うことで同酵素の遺伝子を同定した。また、同定した遺伝子にコードされた酵素の構造、その酵素による ARA 合成の機構について解析を行った。

本博士論文は、序論、第 1 章から第 3 章、総合考察から構成されている。序論では、多価不飽和脂肪酸の構造と機能および多価不飽和脂肪酸の生合成経路について、過去の研究によって明らかとなった知見がまとめられている。第 1 章では、ARA の生産に関わっている多価不飽和脂肪酸合成酵素の探索を行った。既

知の種々の生物の脂肪酸組成を調査し、炭素鎖 18 の中間体を蓄積することなく ARA を生産する生物として海洋性細菌 *Aureispira marina* を見出し、この細菌では多価不飽和脂肪酸合成酵素によって ARA が合成されているのではないかと予想した。この細菌のゲノム配列は未知であったため、ドラフトゲノム配列を決定し、得られた配列の中から、既知の多価不飽和脂肪酸合成酵素と相同性のあるタンパク質をコードする遺伝子を探索した。その結果、5 つの遺伝子からなる遺伝子クラスター (*pfaABCDE* と命名) を見出した。既知の DHA や EPA の多価不飽和脂肪酸合成酵素と比較すると、多価不飽和脂肪酸の合成に必要なドメインが全て保存されていることがわかった。

第 2 章では、見出された遺伝子クラスターが ARA の合成に関わっている多価不飽和脂肪酸合成酵素の遺伝子クラスターであることを確認するため、大腸菌において遺伝子群を発現させた。3 つのベクターを使って遺伝子群を発現させると、大腸菌が ARA を合成することがわかり、同定した遺伝子クラスターが ARA を生産する多価不飽和脂肪酸合成酵素の遺伝子クラスターであることが明らかとなった。また、ARA の合成には全ての遺伝子が必要であることもわかった。

第 3 章では、同定された多価不飽和脂肪酸合成酵素について、ARA の合成メカニズムを解析するため、EPA を生産する *Shewanella oneidensis* 由来の多価不飽和脂肪酸合成酵素とのハイブリッドを作製して解析した。その結果、エノイル還元酵素 (ER) ドメインは不飽和度の決定に関与していないこと、ホスホパンテテイン転移酵素 (PPTase) は ARA を終産物とすることに寄与していないことが示され、この多価不飽和脂肪酸合成酵素の最終産物が ARA であることには、ER ドメインと PPTase 以外のドメインが関与していることが明らかとなった。最後の総合考察では、この博士論文において明らかになったこと、今後、さらに進めるべき課題や展望についてまとめられている。

以上のように、本博士論文の研究では、これまで未知であった ARA の合成に関わる多価不飽和脂肪酸合成酵素の遺伝子を初めて同定することに成功し、微生物を用いて ARA を生産する道を切り開いた。この酵素による ARA 合成のメカニズムの解明までには至らなかったものの、他の多価不飽和脂肪酸合成酵素と合わせて比較・解析することにより、今後の研究で明らかになるものと期待される。生化学や応用生物学の分野に寄与する大変重要な研究であり、高く評価することができる。したがって、本審査委員会は博士 (学術) の学位を授与するにふさわしいものと認定する。