

氏名(本籍)	田宮寛子(新潟県)			
学位の種類	博士(生物工学)			
学位記番号	博乙第2632号			
学位授与年月日	平成25年2月28日			
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当			
審査研究科	生命環境科学研究科			
学位論文題目	<b>Studies on Biological Roles of S-Adenosylmethionine Synthetase in <i>Caenorhabditis elegans</i></b> (Caenorhabditis elegans における SAM 合成酵素の生物学的役割に関する研究)			
主査	筑波大学教授	農学博士	深水昭吉	
副査	筑波大学教授	農学博士	馬場忠	
副査	筑波大学教授	博士(農学)	谷本啓司	
副査	筑波大学講師	博士(学術)	加香孝一郎	

## 論文の内容の要旨

SAM (S-adenosylmethionine) は、メチオニンに ATP のアデノシル基が付加されて生合成される物質であり、その合成は SAM synthetase (SAMS) により行われる。SAM は DNA や RNA、タンパク質、脂質など、様々な生体分子のメチル化修飾に必須なメチル基供与体としての機能と、メチオニン代謝や、そこから派生するポリアミン合成経路、システイン・グルタチオン経路の中間代謝産物としての機能がある。そのため、SAM の量的変化はメチル化やメチオニン代謝の恒常性の破綻をもたらし、生体内において重篤な事態を引き起こす事が予想される。

そこで、本研究において著者は、個体における SAM の機能を理解する為に、線虫・SAMS 遺伝子欠損変異体を持ちいて、その表現型から生体内における SAM の役割の重要性を解明した。

本論文の第二章で、著者はまずアミノ酸ホモロジー解析から線虫には *sams-1*, -3, -4, -5 の4つの *sams* 遺伝子が存在し、それぞれ約80%の相同性がある事を明らかにした。次に、生化学的解析を行い、SAMS-1, -3, -4, -5 タンパクにおける SAM 合成活性を *in vitro* で検討した。その結果、すべての SAMS タンパクで SAM 合成活性が確認した。興味深いことに、SAMS-1 と -5 の活性は同程度であり、また SAMS-3 と -4 に関しては SAMS-1, -5 よりもかなり高い活性を有する事が明らかとなった。次に、*sams* 遺伝子の機能欠失型変異体を用いた型解析を行い、その結果、*sams-1* 変異体でのみ、産卵数の減少をはじめとするいくつかの顕著な表現型を観察した。*sams-1* 変異体で顕著な表現型が観察されたことは、線虫体内で他の SAMS タンパクよりも SAMS-1 が優位に機能を果たしている、もしくは優位に発現している可能性を示唆している。

次に、第三章で、著者は顕著な産卵数の減少に着目し、この制御機構を解析した。*sams-1* 変異体では、野生型の線虫に比べ、その生涯に産む卵の数が約80%も減少した。一方で、*sams-3*, -4, -5 では産卵数の減少が観察されなかった。*sams-1* 変異体に *sams-1* 野生型を導入したトランスジェニック線虫を作製し、産卵数の解析を行うと、産卵数は野生型と同レベルまでレスキューされた。次に、酵素活性に必要な ATP の結合ドメインにアミノ酸点変異を挿入し、酵素活性を欠失させた SAMS-1 3GD 変異型を導入してトランスジェニック線虫を作製した。この線虫において、産卵数はレスキューされなかった。従って、SAMS-1 による産

卵数制御は、SAM 合成活性依存的な現象である事が示された。

また、著者はSAMS-1 特異的な産卵数制御機構を明らかにするために、各 *sams* 遺伝子の発現組織解析を行った。共焦点顕微鏡による観察から、SAMS-1 は生涯を通して体壁筋と腸で発現しており、SAMS-3 と -4 は主に神経での発現が観察できた。*sams-1* と *sams-3, -4, -5* 遺伝子間で発現組織や時期に違いがみられた。この結果から、*sams-1* と *sams-3, -4, -5* での発現組織の違いが、*sams-1* 変異体における産卵数の減少を生み出す可能性が考えられた。そこで、最後に SAMS-1 の発現組織や時期を制御する *sams-1* プロモーター制御下で SAMS-1 同様に酵素活性を有する SAMS-3, -4, -5 を発現させて、*sams-1* 変異体の産卵数がレスキューされるかどうかを検討した。その結果、*sams-1* 変異体の産卵数減少がレスキューされる事が明らかになった。以上の結果から、*sams-1* プロモーターの制御下での SAM 合成活性が正常な産卵数維持に重要であることが示唆された。

### 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究において、第二章で見出した知見は、線虫 SAMS ファミリータンパクが SAM 合成活性を有するという事実を初めて示しただけでなく、各 *sams* 遺伝子の表現型解析から、*sams* 遺伝子の中で、線虫の生体の恒常性維持に *sams-1* が重要な役割を担う可能性を示唆した。第三章では、*sams-1* 変異体でみられた産卵数の顕著な減少が SAM 合成活性依存的であること、また、*sams-1* 特有の発現組織や時期によりこの現象が引き起こされる事を示した。本研究の知見から、SAMS により量的制御をうける低分子化合物である SAM が、生殖機能の正常な発達に必要な可能性を示唆し、製薬分野に有用な基盤的知見を開拓したと判断される。

平成 24 年 12 月 29 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員の出席のもとに論文の審査を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（生物工学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。