

論文審査の結果の要旨

氏名 名和 大輔

本論文は4章からなり、第一章は α Galactose転移酵素(α 4GalT(Gal))および β Galactose転移酵素(β 4GalT(Gal))活性測定法の確立、第二章は抗Gal β 1-4Gal抗体の作成とその特異性解析、第三章はニワトリ、ダチョウ、ハト組織における2つの糖転移酵素活性測定と発現分布、最後に鳥類種間におけるGal β 1-4Galの発現分布解析について記述されている。生体内に発現する糖鎖は、生物種間で保存されている糖鎖と種特異的に発現する糖鎖に分類できるが、種特異的に発現する糖鎖に関しては、それらの有無、生体内での機能、特に微生物やウイルスなどの選択圧による進化、などの観点から興味を持たれている。名和は、鳥類においてGal α / β 1-4Galを含む糖鎖の発現分布を系統樹と照らし合わせて解析するために、酵素活性測定法、特異的抗体を用いた糖鎖検出法、という2つの手法を確立し、 α / β 4GalT(Gal)の酵素活性、Gal α / β 1-4Galの発現分布について、鳥類の種間での比較分析を行った。

1. α 4GalT(Gal)および β 4GalT(Gal)の活性測定法の確立

Gal β 1-4GlcNAcを非還元末端にもつ複合型2本鎖糖鎖を蛍光標識することにより感度を高め、AmideおよびODSカラムの二次元マッピングを行うことにより、構造的に類似の反応生成物を分離する系を確立した。すなわち、反応後の生成糖鎖を糖加水分解酵素により逐次分解することにより、その溶出位置を既知の糖鎖と比較した。この結果、13種類の生成物についてその構造を同定し、これらの酵素活性を同時に測定することを可能にした。

2. 抗Gal β 1-4Gal抗体の作製とその特異性解析

糖鎖構造の発現分布を調べる際に、その構造を特異的に認識する抗体を用いる手法は簡便である。名和はメダカの卵のフェノール抽出物をマウスに免疫し、脾臓細胞とミエローマ細胞を融合させ、抗Gal β 1-4Gal抗体を産生するハイブリドーマ4種類を得た。これらの抗体は、Gal β 1-4Galを非還元末端部位に持つ糖鎖に対してのみ特異的に結合することをフロントアルフィニティクロマトグラフィーで明らかにした。

3. ニワトリ、ダチョウ、ハトの組織における α/β 4GalT(Gal) 活性測定および Gal α/β 1-4Gal の発現分布解析

三つの分岐群に分類される現生鳥類から、各分岐群の代表としてダチョウ、ニワトリ、およびハトを選択し、それぞれの組織における α/β 4GalT(Gal) の酵素活性を測定した結果、ハトには α 4GalT(Gal) および β 4GalT(Gal) の活性が、ダチョウでは β 4GalT(Gal) のみの活性が検出されたのに対し、ニワトリではいずれの酵素活性も検出されなかった。一方、 β 4GalT(GlcNAc) は 3 種全てで活性が検出された。このことから鳥類においては、GalT(Gal) の発現パターンが少なくとも 3 種類存在することが明らかとなった。

4. 鳥類における Gal β 1-4Gal の発現分布の解析

Gal α 1-4Gal に関しては、ダチョウ小綱とキジカモ小綱には存在しないが、新顎下綱に分類される鳥類の大部分は Gal α 1-4Gal を持つことが明らかとなっている。しかし、キジカモ小綱に属するニワトリにおいては α/β 4GalT(Gal) のいずれもが検出されなかった。そこで、ニワトリと系統的に近縁な種が Gal β 1-4Gal を発現するか否かを明らかにするために、キジカモ小綱を中心とした 9 種類のトリで酵素活性の測定を行った。その結果、Gal β 1-4Gal がウズラでは検出されたものの、ニワトリ、およびコジュケイでは検出されなかった。このことから、ニワトリやコジュケイの家禽化された鳥は進化の過程で β 4GalT(Gal) の遺伝子が不活性化されたと考えられる。調査したほとんどの鳥類が Gal β 1-4Gal 構造を持つことは、それぞれの種が進化の過程で β 4GalT(Gal) 遺伝子を保存し続けたことを意味し、Gal β 1-4Gal を喪失することが多くの鳥類の生存に不利に働いてきた可能性が示唆された。

以上、本研究により、鳥類の多くの種において Gal β 1-4Gal が発現していることが明らかとなった。また少数派のニワトリとコジュケイにおいて、Gal α 1-4Gal および Gal β 1-4Gal のいずれも発現していないという家禽化の影響が認められた。Gal α 1-4Gal の鳥類での広範な発現分布を合わせて考えると、現生鳥類の大部分は非還元末端部位に Gal α 1-4Gal もしくは Gal β 1-4Gal を持ち、哺乳類とは異なる糖鎖構造を形成している、という新しい認識が得られた。これらの知見は、糖鎖という視点から進化を捉え、新しい知見を提言するものである。従って、博士（生命科学）の学位を授与するに値するものと判断される。