

氏 名 田 中 剛

学位（専攻分野） 博士(理学)

学 位 記 番 号 総研大甲第767号

学位授与の日付 平成16年3月24日

学位授与の要件 生命科学研究科 遺伝学専攻

学位規則第4条第1項該当

学 位 論 文 題 目 Evolutionary studies of metabolic networks on
the basis of genome information

論 文 審 査 委 員 主 査 教授 館野 義男
教授 池村 淑道
教授 齋藤 成也
教授 山尾 文明
助教授 颯田 葉子

論文内容の要旨

A variety of biological molecules play important roles in maintaining life through their intermingling networks. Among the networks is the metabolic one that functions as the interactions between substrates and enzymes. In other words, the metabolic network is composed of the enzymatic reactions (ERs) in which one or more enzymes catalyze the reactions of the pertinent substrates. Since metabolism is indispensable for maintaining life in all organisms, any changes of the metabolic networks must have greatly affected the organismic evolution.

In his thesis, Tsuyoshi Tanaka has studied the evolution of the metabolic networks using the complete genome sequences and genealogical relationships among a number of species, both eukaryotes and prokaryotes. Based on the complete gene sets of the species studied, he examined whether a particular gene encoding the corresponding enzyme existed in the species in question. In particular, he conducted a comparative analysis of the metabolic networks among the species using the set of genes. First, he investigated the evolutionary process of the metabolic networks focusing on the gain and loss of ERs, because a single gene often functioned in more than one ER in the metabolic networks. Next, taking the pathways of vitamin B₆ (VB₆) metabolism as an example, he systematically estimated the gain and loss of the genes during evolution of the species in order to elucidate the evolutionary process of the metabolic networks. In this examination, he used genes instead of ERs because he was able to identify directly the genes encoding for particular enzymes that were involved with the corresponding ERs in the pathways of VB₆ metabolism.

In Chapter 1, he has given an overview of his evolutionary study of the metabolic networks using the complete genome sequences. He has also described the motivation and purposes of the present study.

In Chapter 2, he conducted comparative studies of ERs in the metabolic

networks among the 6 eukaryotic species whose complete genome sequences were determined. For prokaryotes, it has been known that many gene losses had occurred during evolution. For eukaryotes, however, the evolutionary events of the gain and loss of genes in the metabolic networks are unknown, because no systematic studies have been conducted. The aim of this chapter is to examine how often gains and losses of enzymatic reactions (ERs) have occurred during the evolution of metabolic networks in eukaryotes, and how these evolutionary events have affected phenotypic traits of the organisms.

As a result, he found that the losses of ERs had occurred more frequently than the gains during the evolutionary diversification of metabolic networks in different lineages of eukaryotic species. However, the vertebrate lineage after the separation from *Drosophila melanogaster* showed a remarkable increase in the number of ER gains compared with that of ER losses. In particular, 41% of ER gains were deeply involved with the lipid and complex lipid metabolisms. Because some products of these two metabolisms function as hormones, he concluded that ER gains of the two metabolisms accelerated the development of hormonal signal transduction for the elaborated regulation of physiological system during the vertebrate evolution.

In Chapter 3, in order to understand the evolutionary process of the metabolic networks more detail, he focused upon the VB6 metabolism as an example. The group of VB6, particularly pyridoxal 5'-phosphate (PLP), functions as a cofactor of diverse enzymes in the amino acid metabolism. Most unicellular organisms and plants can biosynthesize PLP using any one of the three known PLP biosynthetic pathways; the *de novo* pathway, the salvage pathway and the fungi-type pathway. On the other hand, animals such as insects and mammals have to take it as nourishment, because they are deficient in the VB6 metabolism.

To understand the evolutionary diversification and breakdown of the VB6 metabolism from the viewpoint of gain and loss of the genes, he conducted a

comparative analysis of the sets of the genes involved in the VB6 metabolism among 122 species, including prokaryotes whose genome sequences were completely determined. In this study, he discussed the gain and loss of the 10 pertinent genes instead of ERs. As a result, he found that every one of the 10 genes was lost more than once in the evolutionary lineages of the 122 species.

He has also made the following three findings in the evolution of VB6 biosynthesis: (1) A breakdown of the fungi-type pathway occurred at least three times independently in some of animal lineages, (2) the *de novo* pathway was established by generation of *pdxB* gene in gamma-proteobacteria, and (3) a fixed order of gene losses in the PLP biosynthetic pathways was evolutionarily conserved among lineages of the different species. These findings strongly suggest that an evolutionary process of the vitamin B₆ metabolism had remarkably been dynamic through the events of gain and loss of the genes during the evolution of the 122 species.

Finally, in Chapter 4, Tsuyoshi Tanaka described the conclusions of his study. In particular, he came to the conclusion that the study of the gain and loss of ERs provided us with profound insight into the understanding of the evolutionary process of metabolic networks. Moreover, he concluded that the gain and loss of ERs not only played important roles in evolutionary diversification of the metabolic networks, but also greatly affected the whole evolutionary process from prokaryotes to eukaryotes.

論文の審査結果の要旨

田中剛君は、「代謝ネットワークは、原核—真核生物にわたって必須な生命活動系の一つであり、酵素と基質の相互作用によって形成されている」という認識のもとに代謝ネットワークの進化研究を開始した。このような研究を生物種の比較を通して遂行するためには、全ゲノムの配列ならびに遺伝子の機能や産物の相互関係に関する情報ができるだけ多く蓄積している生物種を対象とすることが望ましい。

従って彼は、現時点で入手可能なこれらの情報を隈無く探索することから研究に着手した。その過程で彼は、原核生物や微生物の一部についてはある程度の研究が進んでいるが、真核生物では未だ体系的な解析が行われていないことを知った。そこで彼は、代謝ネットワークの進化過程を調べることを目的として、完全ゲノムが解読された真核生物、ヒト、猩々蠅、線虫、発芽酵母、分裂酵母、シロイヌナズナの6種について、それらの種間比較解析を行った。特に彼は、代謝ネットワークの進化過程で起こった遺伝子や酵素反応の獲得や消失の頻度とその時期の推定に重点を置いた。そして、配列の相同性に基づく遺伝子機能の予測から各生物の系統ごとに酵素反応の獲得・消失イベントを推定した結果、彼は、対象とした真核生物6種では、推定可能な代謝ネットワーク全体にわたって、酵素反応の獲得や消失イベントが非常に頻繁に起こっていることを明らかにした。

また彼は、特に、酵素反応の消失が獲得よりも頻繁に起こっており、酵素反応の消失が生物の栄養要求性や代替経路の存在と深く関係していることを発見した。更に興味深いことに、脊椎動物の系統では、逆に酵素反応の獲得が消失より多く、獲得の半数近くが脂質や複合脂質の代謝に集中していることを明らかにした。そして彼は、これらの代謝系の生成物の一部が脂溶性ホルモンであることから、脊椎動物での酵素反応の獲得の増大が複雑な生理機構やその制御の形成に大きく寄与した可能性を示した。種々の生物の関連情報が増えるにつれてさらなる展開をもたらす可能性があるが、このような知見は進化学的に非常に意義があると思われる。

彼はまた、代謝ネットワークの具体的な進化の例としてビタミン B₆ 代謝経路に注目し、122生物種について詳細に調べたところ、この代謝経路においても、進化過程で遺伝子の消失が大量に起っていること発見した。これは、前述の総合的な研究の結論を裏付けている。更に彼は、遺伝子消失時期の推定結果から、動物系統におけるビタミン B₆ 代謝の欠陥が、昆虫や脊椎動物の各系統での SNZ と SNO という2つの遺伝子の欠失と関与していることや、ビタミン B₆ 代謝経路崩壊における5つの関連遺伝子の消失のパターンを推定した。また逆に、遺伝子獲得時期の推定結果から、ビタミン B₆ 代謝経路の進化形成過程を推定した。

彼の学位論文は、生物進化を遺伝子産物の相互関係に着目して研究したところに進展があると思われる。特に真核生物については初めての試みであり、遺伝子の消失によっても生物進化が起こるという認識を更に一歩進めている。前半の総合的な議論には更なる関連情報の整備増強を待たなければならない部分もあるが、ビタミン B₆ の部分ではより着実に議論を展開していて、興味ある結論が導かれている。

審査員一同は、田中剛君の学位論文の口頭発表とそれに対する質疑応答の結果にも

とづいて審査を行った。多くの質疑があったが、彼は真摯に応答し、その内容も、論文の研究に関する知識や思考能力を備えていると判断できるものであった。特に、論文の仕事の始めから終わりまで、田中君が主体的に進めてきたことがよく理解できた。審査員からの意見を率直に聴いて応答する態度やその内容からも、研究者として独り立ちできる熱意と能力があると判断できた。また、田中君は学位論文の内容を2つの原稿にまとめ、彼を筆頭著者として主要国際誌に投稿中である。

さらに、田中君の英語力であるが、学位論文や投稿原稿を主体的に英語で書いていることや、国際学会での発表経験があることなどから、当大学院の水準を上回っていると判断した。

審査委員一同、これらを総合的に吟味した結果、田中剛君の学位は総合研究大学院大学の水準を満たしていると評価し、合格とした。