

分子系統解析による Sirt1 の機能解明

坂本達真

北海道大学大学院 情報科学研究科 生命人間情報科学専攻 情報生物学研究室

1. 背景

近年、サーチュイン遺伝子は長寿遺伝子として解析が進んでいる。特徴的な機能である寿命延長効果だけでなく、血糖値の上昇を防ぐ効果から糖尿病治療に対しての有用性が示唆されている。

酵母が有する Sir2 は、哺乳類が有する Sirt1 と最も強い配列類似度を示す。サーチュインは NAD (ニコチンアミド アデニンジヌクレオチド) 依存性脱アセチル化酵素としても働く。NAD とは全真核生物と多くの古細菌・真正細菌で用いられる電子伝達系であり、これは脱水素酵素の補酵素としても機能する。電子伝達系は酸化型である電子受容体と、還元型である電子供与体の 2 つを言うが、NAD は酸化型を指す。また、サーチュインファミリーには Sir2、Sirt1 ~Sirt7 がある。カロリー制限、絶食時に活性化される。

Sir2 については rRNA 遺伝子を介した反応経路が発見される[1]など解析が進んでいるものの、Sirt1 では反応経路や機能については未解明である。現在、この 2 つの配列類似性に着目して、Sir2 の機能解明を目的とした多くの研究が行われている。

2. 研究の目的

本研究の目的は、強い配列類似性を示す Sir2 との比較により、Sirt1 の機能解明とする。

3. 材料・方法

3.1. Sir2、Sirt1 配列の取得

NCBI より *Plasmodium falciparum*, *Saccharomyces castellii*, *K.lactis*, *Candida dubliniensis*, *Candida albicans*, *Sporothrix schenckii*, *Leishmania infantum*, *Leishmania braziliensis*, *Emiliana huxleyi* の生物種について Sir2 の塩基配列を、*Homo sapience*, *Macaca mulatta*, *Sus scrofa*, *Bos taurus*, *Felis catus*, *Mus musculus* の生物種について Sirt1 の塩基配列を取得した。アライメントには ClustalX2 を、系統樹作成には NJ 法を使用し、Bootstrap 値を 1000 回とした。また、Window 解析には JCoDA[2]を使用した。

3.2. ドメインの特定

Window 解析の結果をもとに選択的進化があった領域における機能を特定するため、PROSITE よりドメインの特定を行った。

3.3. ネットワーク解析

STRING より、Sir2 が相互作用する遺伝子を特定するためにネットワーク解析を行った。

4. 結果と考察

4.1. Sir2 の進化において正の淘汰が見受けられた

塩基配列を用いた進化系統樹より得られた枝長をもとに、遺伝子ごとで枝長の平均値を算出した。

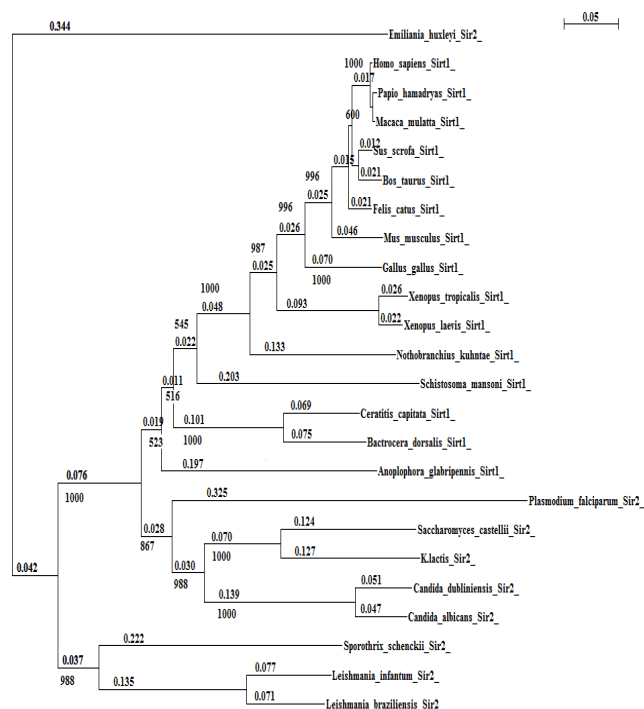


図 1 Sir2、Sirt1 塩基配列を用いた進化系統樹

Sir2 で最も平均値に近い枝長を示した *Leishmania infantum* と Sirt1 の哺乳類群とで Window 解析を行った結果、主に 4 領域で選択的進化が見受けられた。

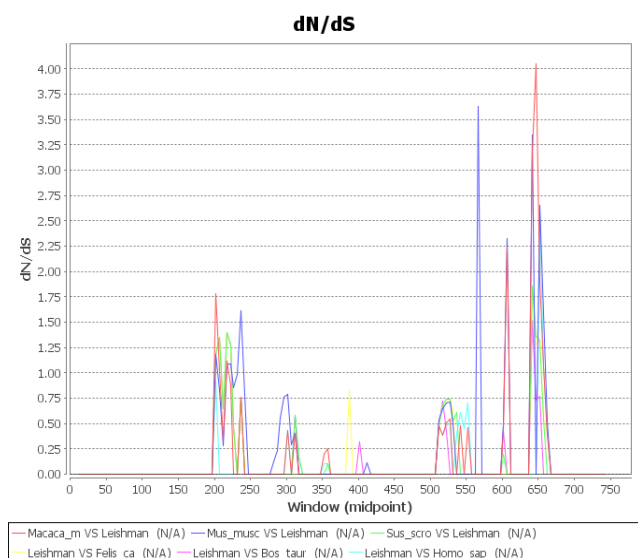


図 2 *Leishmania infantum* と Sirt1 の Window 解析の結果

4.2. 3 領域におけるドメインを特定

PROSITE より、選択的進化が見られた 4 領域のドメインを調べた結果、2Fe-2S ferredoxin-type iron-sulfur binding domain, Anaphylatoxin domain, VWFC domain の 3 つのドメインのうちのいずれかをそれぞれ有することがわかった。特に 2Fe-2S ferredoxin-type iron-sulfur binding domain については、ferredoxin の特徴を調べた結果、電子供与体として Sir2 と相互作用があること、アンモニア生成に関係があることがわかった。

4.3. LinJ28.3060 が Ferredoxin に依存することが判明

STRING より、Sir2 がどの遺伝子と強い相互作用関係にあるかを調べた結果、グルタミン酸脱水素酵素としての機能を有する LinJ28.3060 が存在した。

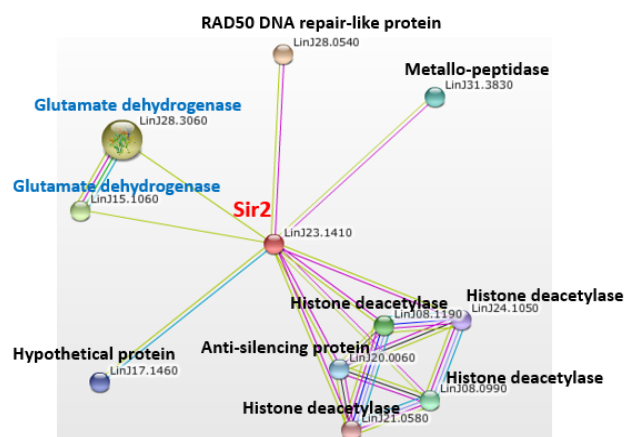


図 3 Sir2 の相互作用を示すネットワーク図

この LinJ28.3060 について調べたところ、グルタミン酸脱水素酵素としての機能を有することがわかった。ほとんどの生物においてアンモニアと α -ケトグルタル酸からグルタミン酸を経てグルタミン合成に至る。ここで、グルタ

ミン酸脱水素酵素はアンモニアと α -ケトグルタル酸からグルタミン酸を合成する過程の酵素である。また、グルタミン酸とアンモニアを結合させ、グルタミンを合成する過程で、グルタミン合成酵素が作用する。さらに、動物の肝臓では、同過程から尿素合成も行う。ここで作用する酵素がグルタミナーゼである。動物ではグルタミン合成、尿素合成の過程で、 NAD^+ も増加することがわかった。この過程において、Ferredoxin は触媒としての役割を有しており、これに対してグルタミン酸脱水素酵素が依存していることがわかった[3]。

ここで、膵臓における Sirt1 は肝臓で増加した NAD^+ により活性化し、インスリン分泌シグナルを出す。その結果、生体の血糖の抑制を促す[4]。また、平衡定数はグルタミンや尿素を生成する側に偏っている。

結果として、Sirt1 により動物にとって害であるアンモニアと α -ケトグルタル酸からグルタミンや尿素を合成する機能の獲得によるアンモニアの無毒化や、膵臓のランゲルハンス島 β 細胞におけるインスリン分泌機能の獲得による血糖の抑制効果を獲得したことが示唆された。

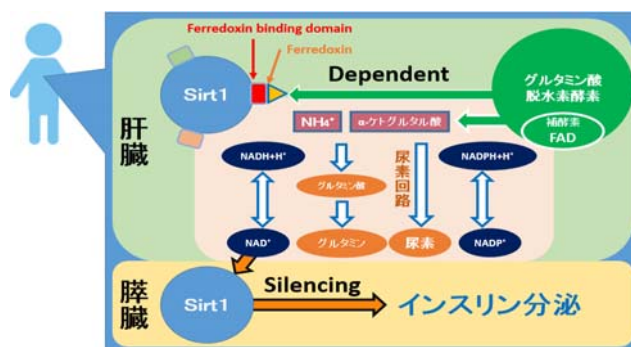


図 4 Sirt1 の機能モデル

5. 結論

Sirt1 は Sir2 の機能と比較し、肝臓においてはグルタミン合成から尿素合成、膵臓においてはインスリン分泌シグナルへと機能が拡張したことがわかった。結果、害となるアンモニアの無毒化や膵臓における血統の抑制の機能を獲得し、酵母、原生物から脊椎動物への進化に対応してサーチュインも Sir2 から Sirt1 へと進化したといえる。

参考文献

- 1) Kimiko Saka *et al.*: Current Biology **18**: 1794-1798(2013)
- 2) Steinway *et al.*: BMC Bioinformatics **11**, 284(2010)
- 3) Hiroshi Yamamoto *et al.*: J Biol Chem **288**: 36328-36337(2013)
- 4) Kiss G *et al.*: FASEB J **28**: 1682-97(2014)