

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	ヒト間葉系幹細胞分化システムを利用した新規遺伝子の探索と機能解析
Title(English)	
著者(和文)	伊藤智哉
Author(English)	Tomoya Itou
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第9678号, 授与年月日:2014年12月31日, 学位の種別:課程博士, 審査員:相澤 康則,林 宣宏,長田 俊哉,廣田 順二,立花 和則
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第9678号, Conferred date:2014/12/31, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	論文要旨
Type(English)	Summary

(博士課程)
Doctoral Program

論文要旨

THESIS SUMMARY

専攻：分子生命科学 専攻
Department of
学生氏名：伊藤 智哉
Student's Name

申請学位(専攻分野)：博士 (理学)
Academic Degree Requested Doctor of
指導教員(主)：相澤 康則
Academic Advisor(main)
指導教員(副)：
Academic Advisor(sub)

要旨(和文 2000 字程度)

Thesis Summary (approx.2000 Japanese Characters)

2003 年のヒトゲノム解読宣言から 10 年経った現在でも、新規ヒト遺伝子の探索が精力的に進められている。ヒトゲノムの全塩基配列が解読されたことにより、配列情報からヒトゲノムには 2 万から 2 万 5 千種のタンパク質遺伝子がコードされていると見積もられたが、そのうち約 4 割は機能的予測すら立てられていないタンパク質遺伝子候補(これら遺伝子候補を以下では仮説的遺伝子と呼ぶ)である。さらに、これら仮説的遺伝子に加えて、2005 年から報告され始めたトランスクリプトーム解析によって、新しい遺伝子候補群が発見された。これら発見された転写ゲノム領域は、その配列を解析しただけではタンパク質遺伝子なのか、ノンコーディング RNA 遺伝子であるのか判別できない。それどころか、機能すら持ちえていない、単なる転写ノイズを発生するゲノム領域である可能性も否定できない。よってこれらの領域から転写される RNA は TUF (transcript of unknown function、機能未知転写産物)とよばれている。本学位論文では、遺伝子研究のこのような現状を踏まえ、上記の 2 つの遺伝子候補群に対し、ヒト間葉系幹細胞 (hMSC) の細胞分化誘導を活用した遺伝子探索について述べている。

第 2 章では、仮説的遺伝子を研究対象に、hMSC の脂肪細胞分化過程に関わる遺伝子を探索する際に、偽陽性を抑制する実験方法を提唱している。hMSC は、異なる 4 種類の試薬 (Dexamethasone、3-isobutyl-1-methylxanthine、insulin および Indomethacine) を添加することで、効率よく脂肪細胞へと分化させることができることから、脂肪細胞分化の研究分野で広く使用されている細胞である。本研究では、hMSC がそれぞれの試薬を単独で処理した場合では細胞へと分化しないことに着目し、脂肪細胞分化を引き起こす 4 種類の試薬を一緒に処理した細胞内で発現変動する遺伝子群と、それぞれの試薬を単独で処理した場合に発現変化する遺伝子群をマイクロアレイ法によって同定したのち、前者遺伝子リストから後者遺伝子群を除くことによって、脂肪分化に直接関係性の高い 12 遺伝子を同定したことを報告している。考察では、これらの 12 種類の遺伝子が、脂肪細胞分化に必須の複数のシグナル伝達経路によって協調的に誘導されている遺伝子群であることから、脂肪細胞分化を制御する可能性が高いと述べている。

第 3 章では、hMSC 骨芽細胞分化誘導系を用いて、新規遺伝子をヒト TUF 群から探索している。ヒト TUF を対象としたカスタムマイクロアレイを使い、hMSC の骨芽分化誘導時に発現上昇する TUF (osteogenesis upregulating transcript 1、OGU1 と命名)を同定したことを報告している。OGU1 は、当初、ノンコーディング RNA と考えられていたが、本論文では OGU1 転写領域を RT-PCR により検証したところ、公共のデータベースに登録されている領域よりも上流から OGU1 が転写されていることがわかり、その新たに判明した転写領域の配列を解析したところ、OGU1 は広い生物種間で保存性の高いタンパク質を翻訳するタンパク質遺伝子であるという仮説に至り、さらに特異的な抗体を作製して、ウェスタンブロッティング法によりその仮説を実験的に実証している。第 4 章では、OGU1 タンパク質配列内に予測される膜貫通領域が、ショウジョウバエの TRP チャネル制御遺伝子の膜貫通領域と類似していることに着目し、OGU1 タンパク質が哺乳類 TRP チャネルの機能制御に関わる可能性を検証している。その結果、OGU1 が一部の TRP チャネルを活性化し、そのチャネルを介した細胞内へのイオン流入を促進することを明らかにした。さらに、免疫沈降の実験結果から、OGU1 と TRP チャネルは細胞内で相互作用していることが示唆されただけでなく、OGU1 タンパク質によって TRP チャネルの翻訳後修飾状態が変化していることを報告している。

以上の通り、本学位論文では hMSC の 2 種類の分化システムを活用した新規遺伝子の同定とともに、同定された遺伝子の中でも OGU1 に特にフォーカスして、機能解析を展開し、OGU1 の機能的役割とその分子メカニズムの一端を明らかにした。特に OGU1 研究の成果は、TUF にも未知なる細胞内機能を有する遺伝子が含まれる可能性を示唆するものであり、今後の TUF 研究の発展の礎になると論じている。

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note：Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).

論文要旨

THESIS SUMMARY

専攻：分子生命科学 専攻
Department of
学生氏名：伊藤 智哉
Student's Name

申請学位(専攻分野)：博士 (理学)
Academic Degree Requested Doctor of
指導教員(主)：相澤 康則
Academic Advisor(main)
指導教員(副)：
Academic Advisor(sub)

要旨 (英文 300 語程度)

Thesis Summary (approx.300 English Words)

The draft sequencing and the subsequent Encyclopedia of DNA Element Project estimated that the human genome contains approximately 20,000 protein genes, although there are still tens of thousands of genomic loci that are predicted to be potential genes. Especially, human gene candidates found in the genomic region called “gene desert” region have a distinctive feature, lower coding potential than the established genes. However, biologically functional entities of these hypothetical genes remain elusive. Give these backgrounds, as described in the chapter 1, the goals of this thesis are set to (1) propose a microarray-based methodology to reduce false-positives in the initial gene functional screening for speeding up functional characterization of gene candidates, and (2) exemplify functional gene(s) from the human intergenic region. To achieve these goals, this thesis project employed the multi-differentiation capability of human mesenchymal stem cells (hMSCs).

Chapter 2 proposes the importance of negative controls for a microarray-based screening for adipogenesis-related genes in hMSC. This these project demonstrated that the significant number of genes changes their mRNA levels only with one of the four reagents. All of the four reagents are required for hMSC adipogenesis, and only either of them never induces the differentiation. By removing these false positives, this thesis identified 12 strong candidate genes involved in hMSC adipogenesis. Chapter 3 presents identification of a novel protein gene from the intergenic region, named OGU1 (osteogenesis up-regulating gene 1). Sequence analysis and expression profiling of OGU1 protein are presented, which proposes a hypothesis that OGU1 may be involved in TRP channel regulation. Chapter 4 presents experimental proof of the hypothesis and mechanistic feature of OGU1-mediated TRP channel activation. Conclusions of this study are presented in the chapter 5, where significance and prospects of this these projects are discussed.

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note：Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).