

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	機能未知なヒトゲノム転写領域からの遺伝子探索
Title(English)	
著者(和文)	福田牧葉
Author(English)	Makiha Fukuda
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9926号, 授与年月日:2015年6月30日, 学位の種別:課程博士, 審査員:相澤 康則,林 宣宏,清尾 康志,若林 憲一,田口 英樹
Citation(English)	Degree; Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第9926号, Conferred date:2015/6/30, 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

(論文博士)

論文要旨 (和文2000字程度)

報告番号	乙 第	号	氏 名	福田 牧葉
本論文は、2005年から始まった哺乳類トランスクリプトーム解析によって発見された、ヒトを含む哺乳類のゲノムに偏在している機能未知転写領域の生物学的意義を探究した。 第1章ではまずは、ヒトゲノムの機能未知転写領域の発見経緯、特徴、生物学的意義についてまとめている。これらゲノム領域の転写活性は、ヒトゲノムの場合は、その領域数は5,000から10,000カ所も存在し、かつ組織特異的あるいは個体発生の特定時期のみで転写されるなどの事実を紹介し、その中には未発見の遺伝子が多数含まれる可能性を示唆している。しかしながら、今日我々が理解している遺伝子配列の特徴からは、それらが遺伝子かどうかを判別することができないことから、これら機能未知な転写領域を解析することで、哺乳類の遺伝子やゲノムに関するさらなる理解を得られると論文中で議論をさかね、本論文の目的を「これら遺伝子間の転写領域遺のなかから新規遺伝子を同定し、その特徴を明らかにすること」と設定したことを述べている。以下、これら機能未知領域から転写されるRNAをTUF (Transcript of unknown functionの略) とよんでいる。 第2章では、相澤研究室ですでに同定していた、ヒト間葉系幹細胞の脂肪細胞分化に伴い、転写発現量が有為に変化する3種類のTUF、<i>AGUI</i>、<i>AGDI</i>、<i>AGD3</i>を研究対象とし、それらのTUFが遺伝子である可能性を検証している。これらRNAはいずれも、他の全てのTUFと同様に、際立って長い読み枠 (ORF) が含まれず、100コドン以下の短いORFが数多く存在するという特徴を有していたことから、それぞれのTUFが①ノンコーディングRNA (ncRNA) あるいは②アミノ酸長の短いポリペプチド鎖をコードするタンパク質遺伝子のいずれかであるという可能性を調べている。そして、各TUFの転写配列構造や細胞内局在などを個別に詳細に調べ、<i>AGUI</i>と<i>AGDI</i>は長鎖ncRNAであることを実証している。一方、<i>AGD3</i>については、RNA塩基配列の生物種間保存性に着目した機能性領域の探索に基づき作業仮説を構築し、ポリクローナル抗体作成およびウェスタンブロッティング法によって、<i>AGD3</i>が63アミノ酸長という、既知タンパク質の平均長に比べてはるかに短いタンパク質を翻訳するタンパク質遺伝子であることを実証している。本章では、TUFには、長鎖ncRNAや短いタンパク質といった、既知遺伝子に対しては例外的な機能実体を有する新しいタイプの遺伝子が当初の予想通り存在することを、実験的に示したことになる。 第3章から第5章では、TUFの機能実体のより深い理解を目指して、TUFにコードされた短いタンパク質群の構造機能相関を探究している。第3章では、<i>AGD3</i>タンパク質に焦点を当てている。<i>AGD3</i>の組み替えタンパク質を調製して、その二次構造組成を分光学的に調べたところ、<i>AGD3</i>が、N末端からC末端までの全長にわたってランダムコイル様な、いわゆる全長天然変性タンパク質 (全長IDP) であることを明らかにしている。このような構造特性が、球状ドメイン構造を機能単位とみなすタンパク質化学の特性と対照的であることを強調している。さらに、このような構造特性が細胞内機能発現にもたらす影響を調べるために、<i>AGD3</i>タンパク質の種々の変異体を作成し、細胞内での挙動を調べたところ、翻訳後修飾による細胞内の局在化が、<i>AGD3</i>タンパク質の細胞内安定性と機能発現に必須であることを				

示している。AGD3以外のTUFにコードされうるタンパク質群も全長IDPである可能性が高いことが配列解析から示唆されていることから、「翻訳後修飾および細胞内局在化による細胞内安定化」がTUFに含まれるタンパク質遺伝子の機能発現に重要な視点であることを提示している。

第4及び5章では、この視点をさらに他の全長IDPに対しても検証している。公共のヒトタンパク質データベースに登録されている100アミノ酸長以下のタンパク質の中から機能性全長IDP候補として同定した機能未知遺伝子候補C18orf42にコードされているタンパク質に対しても、2次構造解析（第4章）および細胞内機能解析（第5章）を行い、本タンパク質も全長IDPであり、上記の仮説が当てはまることを示している。

以上、本論文は、ヒトゲノムの遺伝子が存在しないと考えられていた領域に、ncRNAや小さいタンパク質をコードする新しいタイプの遺伝子群が数多く存在していることを示し、本機能未知転写領域の研究が、ヒトゲノムを理解する上で避けて通れない重要な分野であると述べている。また、本論文は、機能未知転写領域を研究する際の、実験上の基本的な指針や考え方を提示しているため、この新しいゲノム研究分野を発展させるための旗印になるはずである。

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 1 copy 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).

(論文博士)

論文要旨 (英文)

(300語程度)

(Summary)

報告番号	乙 第	号	氏 名	福田 牧葉
Transcriptome analysis have uncovered that thousands of intergenic loci in the human genome are capable of transcription, biological significance of which is not predictable from our current knowledge of gene. The goal of this thesis is to uncover biological entities of these transcripts of unknown function (TUFs) and to re-consider the criteria of the human genes by searching novel genes from human TUFs and investigating the functional aspects of the genes I identified. Chapter 1 introduces the background of TUF biology. The most striking difference between TUFs and mRNAs is that TUFs include only small ORFs, all of which are less than 100 codons and were speculated not to be translated just because of the small sizes. I argue, however, that TUFs can be genes of long noncoding RNAs (lncRNAs) or small proteins. Chapter 2 presents characterization of 3 human TUFs named <i>AGUI</i>, <i>AGDI</i> and <i>AGD3</i>, expression of which are significantly up- or down-regulated during stem cell differentiation. A variety of biochemical and molecular biological experiments demonstrates that <i>AGUI</i> and <i>AGDI</i> are lncRNA genes and <i>AGD3</i> encodes a novel small protein. Chapter 3 focuses on functional characterization of <i>AGD3</i>-encoded protein. Structural (CD spectra and NMR measurement) and cell biological experiments support that AGD3 is an intrinsically disordered protein (IDP) and localized to the membrane raft by fatty acid modification. Inhibition of the posttranslational modification causes proteasomal degradation of AGD3, suggesting that localization to particular subcellular environments can be one of the essential steps for IDPs to escape from the proteasome and to retain significantly sufficient lifetime in cell for functional expression, in general. In order to assess this hypothesis in another IDP, screening for small human IDPs of unknown function allows for identifying a novel small IDP, named C18orf42 (Chapter 4) and molecular biological experiments demonstrate that C18orf42 protein interacts with protein kinase A (PKA) regulatory subunit as a competitor of A-kinase anchoring protein (AKAP), which suppresses degradation of C18orf42 (Chapter 5). Finally, Chapter 6 proposes biological impacts of the intergenic regions of the human genome, and potential function and significance of their expression products, TUFs and small proteins.				

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 1 copy 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).