

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	転移因子LINE の転移・増幅における5´連結機構の解明
Title(English)	
著者(和文)	山口勝己
Author(English)	Katsumi Yamaguchi
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9928号, 授与年月日:2015年6月30日, 学位の種別:課程博士, 審査員:梶川 正樹,岩崎 博史,木村 宏,本郷 裕一,相澤 康則,岡田 典弘
Citation(English)	Degree; Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第9928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)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

論文審査の要旨及び審査員

(2000字程度)

報告番号	乙 第 号	学位申請者	山口 勝己	
論文審査員	氏 名	職 名	氏 名	職 名
	主査 梶川 正樹	講師	相澤 康則	講師
	岩崎 博史	教授	岡田 典弘	名誉教授
	木村 宏	教授		
	本郷 裕一	教授		

本論文は、「転移因子LINEの転移・増幅における5'連結機構の解明」と題し、全4章で構成されている。LINEの転移・増幅における5'末端連結機構の解明を目的に様々な培養細胞内でLINEを転移させ、新規転移したLINE配列の詳細な解析を行い、LINEの5'末端連結機構に少なくとも2つの異なる経路(アニーリングとダイレクト)が存在すること明らかにしている。

第1章「序論」では、本研究の背景と目的について述べている。真核生物のゲノム内に存在する転移因子、Long interspersed element (LINE、長鎖散在性反復配列)の特徴とその転移・増幅機構モデルについての概説がなされている。LINEがほぼすべての真核生物のゲノムDNA内に存在し、宿主ゲノムの大きな構成要素であると共に、宿主ゲノムの進化やその成り立ちに大きく関与していることが述べられている。LINEが、自身のmRNAの逆転写反応を介してDNAコピーを合成し、このDNAコピーを宿主のゲノムDNAに挿入して転移・増幅することが述べられている。この時、LINE DNAの3'末端とゲノムDNAの連結は逆転写反応と共に起こることが知られているが、LINE DNAの5'末端とゲノムDNAの連結機構の分子メカニズムは明らかにされていないことが述べられている。LINE転移に伴う標的ゲノム配列の変化(TSA)、LINE転移配列の5'末端領域構造(全長配列、5'欠失配列、5'逆位配列)および、5'末端連結配列の特徴(MH、DJ、5'EX)が、LINEの5'末端連結機構と密接に関係している可能性が述べられている。以上の研究背景より本研究では、培養細胞内で新規転移させたLINE配列を単離しその配列的特長を解析することで、LINEの5'末端連結機構の分子メカニズムを解明することが目的として述べられている。

第2章「材料と方法」では、本研究で用いた材料及び実験方法が述べられている。

第3章「結果」では、ヒトHeLa-RC細胞とニワトリDT40細胞内で新規に転移させた様々なLINE(ZfL2-2、ZfL2-1、L1、Nimb-2_DR)の5'末端配列の解析結果が示されている。5'EXがその隣接配列由来であることと、5'EX生成には標的となるゲノムDNAの3'末端突出が必要であることが示されている。この結果から、5'EXは、① 逆転写反応中のLINE DNA末端とゲノムDNAの3'突出末端がアニールし、② このアニール部分から新規にDNAが合成され、③ その後アニール部分が解離する、というサイクルを繰り返して生成されることが明らかにされている。また、LINE転移における標的ゲノムDNAの二本鎖目の切断に関する解析結果が示されている。この結果から、TSD、TSTの生じ方が、LINE転移時の標的ゲノムDNAの切断位置の違いで決定されるモデルが提案されている。加えて、TSD、TSTの生成に何らかの宿主因子が関与する可能性が示されている。最後に、MH、DJ、5'EXに関する解析結果が示されている。DT40細胞中で転移したZfL2-1は、常に5'EXまたはMHを伴っているが、L1は、DJを伴っていることが示されている。この解析結果は、DT40細胞では少なくとも2つの異なる5'末端連結経路、アニーリング連結とダイレクト連結、が存在することを示唆している。以上の解析結果を総合的に解釈し、LINE転移の5'末端連結には二つの異なる経路が存在し、どちらの経路が利用されるのかの決定は、標的ゲノムDNAの切断のされ方と宿主因子の関与により決定されるモデルが示されている。

第4章「考察」では、第3章の「結果」を総合してLINEの5'末端連結には、二本鎖目の切断で生じた塩基対領域の3'突出末端への解離の度合いが支配するアニーリング連結またはダイレクト連結の2種類の経路が存在するモデルが提案されている。

以上を要するに、本論文は、LINEの転移後配列解析からLINEの5'末端連結には少なくとも2種類の経路、アニーリング連結とダイレクト連結が存在することを示しており、これまで未解明であったLINEの転移機構の後半段階の解明に大きく寄与するものであり、理学上貢献するところが大きい。よって、本論文は博士(理学)の学位論文として十分な価値があるものと認められる。