

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)	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	福田 牧葉	
論文審査員	氏 名	職 名	氏 名	職 名
	主査 相澤康則	講師	田口英樹	教授
	清尾康志	准教授		
	林宣宏	准教授		
	若林憲一	准教授		

本論文は「機能未知なヒトゲノム転写領域からの遺伝子探索」と題し、8章で構成されている。

第1章「序論」では、2005年頃から活発に行われたトランスクリプトーム解析によって、これまで遺伝子が存在しないと考えられていたヒトゲノム領域から、数千から数万種類のRNAが転写されることが明らかになった歴史的経緯を紹介し、これらRNAを「ヒト・機能未知転写産物 (transcript of unknown function, 以下 TUF)」と呼び、本論文の主題であることを述べている。当時、その機能実体は長鎖ノンコーディングRNA (以下 lncRNA) であるとする見方が主流であったが、本論文ではより俯瞰的に TUF の機能的側面を明らかにすることを目的とした理由を、過去の論文を引用するとともに、相澤研究室でのこれまでの研究成果を照らし合わせて説明している。

第2章「TUFsにコードされた機能性分子の同定」では、ヒト間葉系幹細胞の分化誘導時に有意に転写発現量に変化する3種類のTUFs (AGU1, AGD1, AGD3) がそれぞれ lncRNA として機能するのか、あるいはタンパク質をコードするのかを様々な観点から検証している。細胞内RNA局在解析ならびに阻害剤を用いたパスウェイ解析の結果、AGU1は核内に滞留する lncRNA であり、その転写発現が Wnt 経路依存的であることを示している。AGD1はそのイントロンに3種類のマイクロRNAをコードしている可能性をRNA配列解析から導いたのち、実際に小分子RNAに対するRT-PCRによつての発現解析を行い、AGD1が少なくとも1種類のマイクロRNA (mir-100) の宿主遺伝子であることを実証している。AGD3は大腸ガン特異的 lncRNA であるとする報告が2002年にあったが、本論文では、そのRNA配列の一部が脊椎動物種間で高度に保存されていることを見出し、その配列部分から63アミノ酸残基のタンパク質が実際に翻訳されることをウェスタンブロッティング法 (以下 WB 法) によって明らかにしている。

第3章「新規タンパク質 AGD3 の構造機能解析」では、AGD3 タンパク質の特性を明らかにするために、その細胞内局在や立体構造を調べている。ヒト培養細胞 HEK293T の核・細胞質分画サンプルに対する WB 法や共焦点顕微鏡観察によって、AGD3 が脂肪酸修飾を受けて脂質ラフトと呼ばれる細胞膜ドメインに集積することを示し、AGD3 がシグナル伝達分子である可能性を本論文は述べている。一方、AGD3 の二次構造組成を解析するため、AGD3 の組換えタンパク質を作製し、円偏光二色性を測定したところ、AGD3 が N 末端から C 末端までの全長に渡りランダムコイル様の天然変性タンパク質 (Intrinsically disordered protein, 以下 IDP) であることを示している。この結果をもとに本論文では、全長天然変性という稀な構造特性を有するタンパク質をコードする TUF が他にも存在する可能性を述べている。

第4章「TUFsにコードされた機能性天然変性タンパク質の探索」では、前章の AGD3 の構造解析の結果を受け、ヒト TUFs にコードされた機能性 IDP を探索した結果、プロテインキナーゼ A (以下 PKA) と相互作用する全長 IDP をコードする TUF、C18orf42 の発見に至ったことを述べている。

第5章「全長天然変性タンパク質 C18orf42 の機能解析」では、C18orf42 と PKA との相互作用様式を調べるために、種々の変異体の細胞内発現分布や結合の有無を検証している。その結果 C18orf42 は、細胞膜構造体に局在してその近傍タンパク質をリン酸化する PKA に結合して、その PKA の局在性を阻害する役割があることを明らかにしている。

第6章では、以上の結果をまとめ、今後の展望が議論されている。第7章と第8章ではそれぞれ、実験方法および参考文献を記載している。

以上を要するに、本論文は、未だその多くの機能実体が明らかになっていないヒト TUF に対する個別解析の事例を確立し、TUF が lncRNA や小さなタンパク質をコードする新規遺伝子候補群であることを提唱するものであり、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。