

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	ゼブラフィッシュLINEタンパク質による自身の3' tail RNA認識機構の解析
Title(English)	
著者(和文)	林由訓
Author(English)	yoshinori Hayashi
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9927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9927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	林 由訓	
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、「ゼブラフィッシュ LINE タンパク質による自身の 3' tail RNA 認識機構の解析」と題し、全 4 章で構成されている。本論文は、転移因子の一種、Long interspersed element (LINE)、の転移・増幅機構の解明を目的としたものであり、大きく 2 つの主題で構成されている。前半では培養細胞を用いた実験により、ゼブラフィッシュのゲノム中に存在する LINE (ZfL2-1 及び ZfL2-2) が自身の 3' 末端配列 (stem-loop 配列) を特異的に認識して転移する事を示している。後半では in vitro での結合実験により、ゼブラフィッシュ LINE のコードするタンパク質 (LINE タンパク質) が自身の LINE RNA と特異的に結合する事を示している。

第 1 章「序論」では、本研究の全体的な背景について述べている。真核生物のゲノム中に散在して存在する転移因子、LINE、の宿主生物ゲノムの進化における重要性と、その転移機構モデルの概説がなされている。LINE が、自身配列から転写された RNA を逆転写反応で DNA にコピーし、この DNA コピーを宿主ゲノムに挿入することで転移・増幅することが述べられている。LINE は、転移・増幅時の 3' 末端配列認識機構の違いによって、stringent type と relaxed type の 2 つに分類されることが述べられている。stringent type は、自身の 3' 末端配列を特異的に認識して転移することが明らかにされているが、その特異的認識機構の分子メカニズムは未解明であることが述べられている。本研究が、stringent type LINE の転移・増幅機構の解明を目指し、ゼブラフィッシュ LINE の 3' 末端配列特異的認識機構の分子メカニズム解明を目的としている事が述べられている。

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、ゼブラフィッシュ LINE、ZfL2-1 及び ZfL2-2 が、自身 3' 末端配列の stem-loop 領域を特異的に認識して転移するか否か、培養細胞を利用した転移実験で確かめられている。その結果、ZfL2-1、ZfL2-2 共に、自身の stem-loop 領域を特異的に認識して転移している事が示されている。さらに、ZfL2-1 及び ZfL2-2 の stem-loop 領域に変異を導入する事で、stem-loop 領域の loop 配列がそれぞれの LINE の特異的認識に重要である事を示している。続いて、この特異的認識がゼブラフィッシュ LINE のコードするタンパク質 (LINE タンパク質) と LINE RNA の stem-loop 領域の直接的な結合を介するか否か、in vitro の結合実験で確かめられている。その結果、ZfL2-2 タンパク質が自身 RNA の stem-loop 領域と特異的に結合する事が示されている。更に、LINE RNA との特異的結合に必要な LINE タンパク質領域の同定がなされている。この実験により、LINE RNA の stem-loop 領域との結合に必要なタンパク質領域 (Tail Binding Region (TBR) と命名) が、LINE タンパク質のエンドヌクレアーゼドメインと逆転写酵素ドメインの間に存在することが示されている。

第 4 章「考察」では、第 3 章の実験結果を基にした考察が述べられている。本研究で同定された LINE タンパク質の TBR 領域が塩基性のアミノ酸に富んでおり、この塩基性アミノ酸が LINE の stem-loop RNA との結合に重要である可能性が述べられている。また、本研究で用いられているゼブラフィッシュ LINE は L2 クレードと呼ばれる種類に分類されるが、系統解析から、今回発見された TBR 領域が L2 クレードに分類されるその他の LINE でも高く保存されている事が示されている。この事実から、TBR 領域の LINE 転移における重要性が議論されている。TBR 領域の更なる配列解析により、その N 末端側に存在する塩基性アミノ酸の LINE 間での保存性は高いが、C 末端側では低いことが見出され、C 末端側の塩基性アミノ酸が LINE の stem-loop RNA との特異的結合に関与する可能性が述べられている。

以上を要するに、本論文は、転移因子 LINE の転移・増幅に必須の LINE タンパク質ドメイン、TBR 領域、を発見し、これまで明らかにされていなかった stringent type LINE の転移メカニズムの解明に大きく寄与しており、理学的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。