

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)	要約
Type(English)	Outline

論文要約

ヒトゲノムの全塩基配列が解読されてから 10 年以上が経った今でも、大半のゲノム領域の機能が明らかになっていない。本研究では、これら機能未知なヒトゲノム領域から未発見の遺伝子を探索することを通して、ゲノム機能に対する理解の深化を目指した。新規遺伝子を探索する対象として、2005 年頃から報告が始まった哺乳類トランスクリプトーム解析によって新たに発見された約 5000 のヒトゲノム転写領域に着目した。発見当時、これら領域には遺伝子が存在しないと考えられていたが、その多くが組織特異的あるいは発生段階依存的に転写されているということが明らかになってきたことから、新規転写領域の中には、様々な生体制御システムに関わる機能性 RNA が数多く含まれていると期待されていた。そこで本研究では、「新たに発見された機能未知な RNA (transcript of unknown function, TUF) には、これまでの遺伝子探索研究から見落とされていた新しいタイプの遺伝子が含まれる」と仮説を立て、その実験的検証を目指した。そして、実際にヒト TUF から複数の新規遺伝子を同定した後、それらの機能実体や機能発現機構を個別に調べることを通して、従来の遺伝子の範疇には当てはまらない、新たなヒト遺伝子像を探究した。本論文では、この研究過程から得られた知見を、序論 (第 1 章) に続く全 4 章で構成される本論 (第 2 章から第 5 章) に記述し、第 6 章では、それら研究成果に基づいてヒトゲノム機能や遺伝子に関する考察を記している。

本研究を開始した当時、相澤研究室では、ヒト間葉系幹細胞の脂肪細胞分化に伴い発現量が有為に変化するヒト TUF を網羅的に同定していた。本研究では、それら脂肪分化刺激依存性の TUF を新規遺伝子候補とした。第 2 章では、そのうち分化に伴う転写発現量変化が最も大きかった 3 種類の TUF、*AGU1*、*AGD1*、*AGD3* を研究対象とし、それら TUF が遺伝子である可能性を検証した。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ることにした。そして、各 RNA の転写配列や細胞内局在などを個別に詳細に調べた結果、*AGU1* と *AGD1* は長鎖 ncRNA であることが実証された。一方、*AGD3* 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の作成およびウェスタンブロットティング法によって、*AGD3* 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た。これらの研究から TUF には、長鎖 ncRNA や短いタンパク質といった、一般的なタンパク質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。

第 3 章から第 5 章では、TUF の機能実体についてさらに掘り下げ、TUF にコードされた短いタンパク質群の立体構造特性と機能発現機構との相関を追究した研究を報告している。第 3 章では、TUF 由来タンパク質のモデルとして AGD3 に焦点を当てた。そして、その組換えタンパク質に対する立体構造解析の結果から、他の多くの既知タンパク質とは異なる、AGD3 の特徴的な立体構造特性を明らかにした。この発見を基に、「TUF の主要な機能実体の一つが AGD3 様の構造特性を有した短いタンパク質である」という仮説を立て、第 4 章ではその妥当性を、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に対する立体構造予測の計算結果を基に論じている。さらに、それら AGD3 様タンパク質の中から新規機能性タンパク質候補のスクリーニングを行った結果、プロテインキナーゼ A (PKA) の新規結合タンパク質、C18orf42 の発見に至った。第 5 章では、C18orf42 に対する様々な細胞内機能解析実験を基に、このタンパク質が PKA の機能阻害因子であることを明らかにしている。

本学位論文研究では、合計 4 種類の機能未知ヒト転写領域への個別解析によって、それまでほとんど研究されていなかった RNA (TUF) とタンパク質 (短いタンパク質) の機能性に関して新たな視点を投じた。本研究で示した TUF からの新規遺伝子の同定および機能解析から得られた知見は、これからの遺伝子探索研究に有用な参照事例として、ゲノム機能のさらなる理解に繋がる一つの道標を提供している。