

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	上流 ORF による 5' 非翻訳領域の機能性発現
Title(English)	
著者(和文)	北野翔平
Author(English)	Shohei Kitano
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10738号, 授与年月日:2018年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:相澤 康則,久堀 徹,田口 英樹,林 宣宏,二階堂 雅人
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第10738号, Conferred date:2018/3/26, 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

論文要旨

THESIS SUMMARY

専攻：分子生命科学 専攻
Department of
学生氏名：北野 翔平
Student's Name

申請学位 (専攻分野)：博士 (理学)
Academic Degree Requested Doctor of
指導教員 (主)：相澤 康則
Academic Supervisor(main)
指導教員 (副)：
Academic Supervisor (sub)

要旨 (和文 2000 字程度)
Thesis Summary (approx.2000 Japanese Characters)

本学位論文では、真核生物の遺伝子がもつ機能性を探究するために、5' 非翻訳領域にある読み枠 (上流 ORF) を研究対象とし、「上流 ORF が創出される進化モデルの提唱」および「翻訳制御とは異なる機能的役割をもつ上流 ORF の探索」に関する研究を述べている。

第 1 章では本研究の背景を示し、真核生物における上流 ORF の発見経緯、生物学的意義および当該研究分野の現状についてまとめている。2000 年代の大規模塩基解析技術の発達により、ヒト 5' 非翻訳領域には約 6 万の上流 ORF が存在すること、そしてこれらの上流 ORF の多くが実際に翻訳されていることが明らかになり、上流 ORF によるメイン ORF (annotated ORF または anORF) からの翻訳制御が主要な遺伝子発現調節機構あることを論じている。その一方で、上流 ORF に関して理解が進んでいない 2 つの点「上流 ORF の進化的起源」と「翻訳制御以外の上流 ORF の機能性」を挙げ、これらについて探索することが、上流 ORF の生物学的意義をより理解するために重要であると述べている。

第 2 章では、ヒトゲノムの進化の過程で、トランスポゾン挿入によって形成された上流 ORF に着目し、上流 ORF の進化創出メカニズムの有無を検証している。トランスポゾンとはゲノム内でコピー数を増やす転移因子であり、5' 非翻訳領域への転移挿入によって新たな上流 ORF を作り得る。本論文では、トランスポゾンの公共データベース RepBase を用いて情報生物学的解析を行い、ヒト全上流 ORF の約 10%にあたる 3,992 個の上流 ORF がトランスポゾン由来であることを示している。また、これらトランスポゾン由来の上流 ORF の起源を明らかにするために、トランスポゾンのコンセンサス配列との配列比較解析を行い、トランスポゾン由来上流 ORF の約 60%が、転移後の変異によって形成されることを述べている。さらに、その多くの変異が CpG メチル化とその脱アミノ化によって促進されているという上流 ORF 創生モデルを提唱するに至っている。

第 3 章では、「anORF の翻訳制御」とは異なる役割をもつ上流 ORF を探索している。anORF 翻訳を制御する上流 ORF の翻訳量は、上流 ORF の翻訳量と負の相関がある場合が多いという過去の知見を参考にして、anORF と同程度の翻訳レベルにある上流 ORF を特定している。この際、翻訳レベルを定量できるリボゾームプロファイリング法のデータを用いている。アミノ酸配列保存性も考慮した結果、43 個の上流 ORF 候補が得られている。これら上流 ORF のなかうち、脊椎動物ホモログ間で配列保存性が最も高い *ARHGEF9* 遺伝子の上流 ORF (SPICA と命名) に解析対象を絞り、その後の個別解析を行っている。SPICA タンパク質に対して作製した抗体を用いたウェスタンブロット (WB) 法により、SPICA が脳特異的に翻訳され、安定に存在していること示している。さらに、レポーターアッセイにより SPICA は anORF の翻訳制御に関わっていないことを示している。これらの結果から、SPICA は翻訳制御以外の機能をもつ、特に機能性タンパク質コードしている可能性を言及している。

第 4 章では、SPICA 欠損マウスを作製し、SPICA の生理機能の有無を検討している。マウス体内で SPICA を欠損しても *Arhgef9* タンパク質の翻訳量や機能に異常が起きていないことを WB 法で示し、SPICA が個体内でも翻訳制御に関わっていないことを確認している。*Arhgef9* と SPICA の両 ORF を欠損したマウスに対する表現

形解析に関する過去の報告を参考に、**SPICA** 欠損マウスをオープンフィールドテストによって解析し、不安様行動の増加が起きていることを示している。さらにこの表現形が、オープンフィールドテスト以外の行動解析方法によっても観察されたことも報告している。また不安様行動の増加に加えて、**SPICA** 欠損メスマウスは育児放棄をする傾向が極めて高く、**SPICA** が養育行動にも関与していることを示している。

第5章「総括」では、以上の結果をまとめ、今後の展望が議論され、第6章「実験方法」では、本論文で行った実験の詳細なプロトコールを記述し、第7章「参考文献」では、本論文で引用した文献の情報をまとめている。

以上の通り、本学位論文では、進化プロセスにおける上流 **ORF** 創生の新しいメカニズムを解明するとともに、上流 **ORF** 由来タンパク質が生理活性をもつ可能性を提示した。これら知見は、これまでは注目されていなかった上流 **ORF** の新しい側面を照らし出すものであり、今後の上流 **ORF** 研究の発展の礎になると論じている。

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 1copy 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).

(博士課程)
Doctoral Program

論文要旨

THESIS SUMMARY

専攻:	分子生命科学	専攻
Department of		
学生氏名:	北野 翔平	
Student's Name		

申請学位 (専攻分野):	博士	(理学)
Academic Degree Requested	Doctor of	
指導教員 (主):	相澤 康則	
Academic Supervisor(main)		
指導教員 (副):		
Academic Supervisor(sub)		

要旨 (英文 300 語程度)
Thesis Summary (approx.300 English Words)

This thesis presents studies on evolutionarily origin and functionality of open reading frames (ORFs) located within 5' untranslated regions of human messenger RNAs (mRNAs), so-called upstream ORFs or uORFs. Chapter 1 describes the current knowledge: uORFs are accepted as *cis*-elements that regulate translation of the downstream and annotated ORFs (anORFs), more than 60,000 uORFs are present in human genome and many of them are translated *in vivo*. Subsequently, two open questions of mammalian uORF biology are introduced; (1) evolutionary creation model of uORFs and (2) physiological roles of uORFs other than the *cis*-acting translation regulation. In Chapter 2, human uORF creation driven by transposons is investigated. Bioinformatics analyses demonstrate that 10% (3,992) of human uORFs are derived from transposons. By comparing the obtained uORF sequences to consensus sequences of corresponding transposons, a novel uORF creation mode is proposed that transposon-derived uORFs can be generated via the evolutionary arms race between host epigenetic mechanisms and transposons. Chapters 3 and 4 describe the discovery of a uORF having physiological roles distinctive from translation regulation of anORFs. Bioinformatics screening in Chapter 3 leads to a collection of uORFs that are translated in both human and mouse brain on polycistronic mRNAs. Of the uORFs, *Arhgef9* uORF (named SPICA) is intensively studied in the following section. It is demonstrated that the amino acid sequence of SPICA is highly conserved among vertebrates. SPICA protein is stably expressed in mouse brain, suggesting that SPICA translation plays crucial roles in brain function. To address this hypothesis, as illustrated in Chapter 4, a mouse model lacking SPICA is generated and subjected to 11 different behavior tests, revealing that SPICA is involved in anxiety control and maternal behavior. In Chapter 5, implications and future directions of uORF research are discussed for our better understanding of gene functionality expression through uORFs.

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).