

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)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

論文審査の要旨及び審査員

報告番号	甲第		号	学位申請者氏名	北野 翔平	
論文審査 審査員		氏名	職名		氏名	職名
	主査	相澤 康則	准教授	審査員	二階堂 雅人	准教授
	審査員	久堀 徹	教授			
		田口 英樹	教授			
林 宣宏		准教授				

論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は「上流 ORF による 5' 非翻訳領域の機能性発現」と題し、7 章で構成されている。

第 1 章「序論」では、真核生物メッセンジャー RNA (mRNA) の 5' 非翻訳領域に存在する上流 ORF (uORF) に関する過去の研究を解説した上で、問題提起をしている。まず、「uORF は、同じ mRNA 上に存在するタンパク質コード領域 (annotated ORF、略して anORF) からの翻訳を調節するシス配列である」という通説を具体的な遺伝子を例に解説したのち、近年開発されたリボゾームプロファイリング法 (RP 法) で示された、予想以上の数の uORF が翻訳されているという報告を紹介して、uORF が注目すべきゲノム領域であることを論じている。その上で、「uORF は進化上どのように形成されてくるのか?」と「anORF 翻訳調節とは異なる役割をもつ uORF は存在しないのか?」という 2 つの未検討の疑問を提案し、これら uORF の進化と機能性に関する探究が遺伝子発現原理への新しい理解に繋がることを論じ、それを本博士論文研究の目的としたことを述べている。

第 2 章「uORF の進化的起源の解析」では、多くのヒト遺伝子の進化に関与してきたことが知られているトランスポゾンに着目し、トランスポゾン配列由来の uORF が形成された進化メカニズムの解明を試みている。情報生物学的解析により、トランスポゾン由来の全ヒト uORF (3,992 個) を特定したのちに、レポーターアッセイによってこれら uORF の多くが、anORF 翻訳量の制御に関わっていることを示している。その後各 uORF 配列を、トランスポゾンのコンセンサス配列と比較することで、トランスポゾン配列上でメチル化された CpG が脱アミノ化することで形成される uORF が有意に多いことを実証している。この uORF 創生が現代ヒト集団内でも進行中であることを、一塩基多型データを用いて示し、そのような多型 uORF の存在が anORF 翻訳量を変えうることをレポーター実験で示している。これらの結果から、トランスポゾン抑制機構である CpG メチル化が促進させる uORF 創生モデルを提唱している。

第 3 章「anORF の翻訳制御に関わらない uORF 候補の探索」では、anORF 翻訳調節とは異なる役割をもつ哺乳類 uORF の候補を探索している。同一 mRNA 上に存在する anORF と同程度の翻訳レベルにある uORF を、RP 法データを用いて生物情報学的に選別したのち、uORF にコードされるタンパク質のアミノ酸配列の保存性を考慮して、*ARHGEF9* 遺伝子の uORF (SPICA と命名) をその後の実験の対象としている。SPICA に対して作成した抗体を用いたマウス各臓器に対するウェスタンブロット (WB) 法により、SPICA が実際に翻訳されていることを確認し、その発現部位が脳特異的であることを示している。また、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 はマウス脳で、翻訳制御とは異なる生理機能を果たしている可能性を言及している。

第 4 章「Arhgef9 uORF の遺伝的解析」では、前章で示唆された SPICA 機能に関する仮説を、SPICA 欠損マウスを作成して実験的に検証している。はじめに、SPICA 欠損によって anORF からの Arhgef9 タンパク質翻訳量が変化していないことを WB 法で示し、SPICA が *in vivo* でも翻訳制御に関わっていないことを確認している。その後、Arhgef9 タンパク質と SPICA の両方を欠損させたマウスに関する先行研究を参考に、マウス行動異常の表現型を探索したところ、SPICA 欠損マウスでは不安様行動の増加が起きていることを見出している。また 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 が正常な養育行動にも寄与していることも実証している。本章では最後に、ポリシストロニックな真核生物 mRNA が存在することを示す本研究の意義を考察し、これまでのモノシストロニック性を前提とした遺伝学的研究の結果を再評価すべきであると述べている。

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ている。

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ルを記述している。

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。

以上を要するに、本論文は uORF の創生進化モデルを提唱するだけでなく、哺乳類高次行動を制御する生理活性タンパク質をコードする uORF が存在することを実証したものであり、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。

注意:「論文審査の要旨及び審査員」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。