

論文内容の要旨

申請者氏名 稲垣 幸

non-coding RNA (ncRNA) はタンパク質をコードしない RNA の総称であり、従来の研究から、翻訳 (tRNA/rRNA) やスプライシング (UsnRNA)、あるいはタンパク質輸送 (SRP RNA) など、生命の根幹に関わる重要な役割を担っていることが知られている。これらの古典的な ncRNA 分子に加え、真核生物には膨大な数の高分子量の ncRNA (mRNA-like ncRNA) が存在することが近年の研究により明らかにされつつある。マウスや人などの哺乳類においては mRNA-like ncRNA であると思われる転写産物が多数見つかっており、分子種の数にしてタンパク質 mRNA に匹敵すると推測されている。これら mRNA-like ncRNA は、ORF が短い以外ことを除けば、共通したモチーフや構造は見つかっておらず、また機能解析がほとんど進んでいないこともあり、その生理学・生化学機能は不明である。その膨大な数を考慮すれば、生命現象における ncRNA の役割を理解する上で、mRNA-like ncRNA の機能の解明は必要不可欠と考えられる。

本研究では、未知の mRNA-like ncRNA の機能に迫るため、様々な遺伝学的手法が確立されているキイロショウジョウバエをモデル系に選び、情報科学的手法および実験生物学的手法を用いて mRNA-like ncRNA の解析を行った。まず、11,691 個のショウジョウバエ全長 cDNA を出発材料とし、コンピュータ解析によりタンパク質遺伝子と重複するものを除いた結果、135 個の mRNA-like ncRNA 候補を同定した。次に、これら候補について、*in situ* ハイブリダイゼーション法を行い、32 個について胚発生期において発現していることを示し、MRE (mRNA-like ncRNA in embryos) と名付けた。また、MRE 及び近傍の遺伝子についてノザン解析を行い、13 個に関しては近傍のタンパク質遺伝子の UTR もしくはイントロンであることを強く示唆する結果を得た。さらには近縁種のゲノム配列との比較により、2 個は非常に短いペプチド (32 あるいは 52 アミノ酸) をコードしているものと考えられた。これらの解析の結果、ncRNA と考えられたものが 4 個あり (MRE-3、-16、-29、-31、-32、-33)、それ以外に 13 個の ncRNA であることが疑われる遺伝子を同定することができた。これら ncRNA 候補の多くは組織及び時期特異的な発現様式を示すことが明らかとなった。

本研究により得られた結果は、現在様々な生物において報告されている膨大な数の mRNA-like ncRNA が、細胞特異的な発生、分化に関与していることを示唆しており、機能性分子としての RNA の役割に迫るための大きな手がかりとなるはずである。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 稲垣 幸

mRNA-like ncRNA はその配列を見る限り、poly(A)配列を含み、スプライシングを受けるなど、タンパク質遺伝子と非常によく似ており、ORF が短い点以外に特定の同定法はないことが知られている。本研究では、従来から用いられている Genscan や Genie などの遺伝子検出プログラムや、blast をはじめとする相同性検索プログラムだけでなく、*in situ* ハイブリダイゼーションや、ノザン解析などの方法により、実験的に転写産物を検出することにより ncRNA を同定しようとするものであり、また近縁種のゲノム配列の比較など、新しい試みを行うことによって、一定の成果を上げている。結果として、少なくともショウジョウバエにおいては、配列情報だけで得られた ncRNA 候補の多くはタンパク質遺伝子の一部であったり、あるいは生物学的に意味のある発現が検出できないものであることが判明し、先行して発表されているマウスやヒトなどの解析に対するアンチテーゼとなっている。その意味でも、本研究は mRNA-like ncRNA の先駆的な研究として評価してよい。また、上記の同定作業の副産物として、これまでタンパク質遺伝子として認識されていなかったにもかかわらず、非常に保存された短い ORF を検出しており、これまで ncRNA と思われていた転写産物の中には、実は短鎖ペプチドをコードする可能性のあるものが含まれていることを明らかにしており、今後 ncRNA を同定する際に一つの指針となるのではないと思われる。

一方で、本研究では新規の mRNA-like ncRNA を同定することに成功しており、詳細な発現解析により、これらのうちの3個に関しては組織特異的な発現パターンを示すことを明らかにしている。現在までのところ、生理的役割の判明している mRNA-like ncRNA は、転写制御に関与することが判明している一部の RNA に限られており、申請者が言及しているような、発現様式を反映した細胞特異的な機能を持つ mRNA-like ncRNA が実際に存在するのであれば、mRNA-like ncRNA の生理機能を考える上で、大きな意味を持つことになるだろう。今後、本研究の実験材料でもあるショウジョウバエ遺伝学を活用して、その機能が明らかになることが期待される。

以上のように、本論文はショウジョウバエにおいて新規の mRNA-like ncRNA を多数同定しただけでなく、mRNA-like ncRNA について詳細な検討を行った最初の報告であり、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（バイオサイエンス）の学位論文として価値あるものと認めた。