

10/10/01


(別紙様式第3号)

論 文 要 旨

論 文 題 目

Functional second genes generated by retrotransposition of the X-linked ribosomal protein genes

(X 染色体上のリボソームタンパク質遺伝子からレトロ転位により生じた遺伝子)

氏名 上地珠代 

【目的】 ヒトリボソームは、4種類の rRNA と 79種類のリボソームタンパク質 (RP) の複合体である。近年、ダイヤモンド・ブラックファン貧血症の多くの患者で、*RPS19* の一方の対立遺伝子に変異が確認された。また、ショウジョウバエでは、RP 遺伝子の haploinsufficiency により発育や生殖能力に異常をきたすことが明らかとなった。従って、個体の正常な発育には、各 RP 遺伝子が2コピーずつ必要であると考えられている。我々は、これまでに、RP 遺伝子群がゲノム全体に散在し、X 染色体には4個の RP 遺伝子が存在することを明らかにした。その4個のうち、*RPS4X* は Y 染色体に相同遺伝子を持つ。これは、男女間で遺伝子量を等しくするための機構であると考えられる。本研究では、残り3個の遺伝子、*RPL10*、*RPL36A*、*RPL39* の相同遺伝子を同定し、その意義を探ることを目的とした。

【方法】 *RPL10*、*RPL36A*、*RPL39* の cDNA 配列を用いて、ヒトゲノム配列に対して相同検

索を行なった。抽出された配列のうち、EST データベースに存在するものについて、機能遺伝子である可能性が高いと考えた。そこで、これら配列を特異的に認識する Sequence tagged site を設定し、Radiation Hybrid panel を用いて、詳細な染色体上の位置を決定した。さらに、これら新規遺伝子の各臓器及び癌細胞における発現を、Northern blot 法および PCR 法により確認した。

【結果および考察】 X 染色体上の *RPL10*、*RPL36A*、*RPL39* 遺伝子について、常染色体上にそれぞれの相同遺伝子 *RPL10L*、*RPL36AL*、*RPL39L* を同定した。これら遺伝子のコード領域には、イントロンの介在がなかった。従ってこれらは、X 染色体にある RP 遺伝子の mRNA が逆転写され、その cDNA がゲノムに挿入して発現機構を獲得したものであると考えられた。さらに、各臓器における mRNA レベルでの発現を解析した結果、*RPL36AL* はユビキタスに、*RPL10L*、*RPL39L* は精巣で特に強く発現してい

た。これまでも、X染色体からレトロ転位し、精巢特異的に発現している遺伝子がいくつか報告されている。それらと同様に、3つの相同遺伝子も、X染色体が不活性化する精子形成期において、遺伝子量補正の役割を担っている可能性がある。

また、これら相同遺伝子は、X染色体上の遺伝子とは長さも配列も全く異なる5'UTRを、遺伝子の一部として獲得していた。興味深いことに、そのUTRの5'側およそ70bpは、3つの相同遺伝子間で類似していた。また、この領域はHERV (Human endogenous retrovirus) -KのLTR (Long terminal repeat) の一部と類似性があった。この配列の機能的意義はまだ明らかではないが、3つのレトロ転位配列に対して共通におこった機構の名残り、または、現在の発現制御に関わる領域であると考えられた。

(別紙様式第7号)

論文審査結果の要旨

| | | | | |
|--------|----------------------------|------------------|-------|------|
| 報告番号 | 課程博 * 論文博 | 第 号 | 氏名 | 上地珠代 |
| 論文審査委員 | | 平成 15 年 1 月 21 日 | | |
| | | 主査教授 | 森 匡樹 | (森) |
| | | 副査教授 | 大田 利男 | (大田) |
| | | 副査教授 | 石田 肇 | (石田) |

(論文題目)

Functional second genes generated by retrotransposition of the X-linked ribosomal protein genes

(論文審査結果の要旨)

研究に至る背景と目的、研究内容、研究成果の意義、学術水準等につき慎重かつ公正に検討し、以下のような審査結果を得た。

1 研究の背景と目的

リボソームはタンパク質合成装置として生体内で重要な役割を担っている。動物のリボソームは4種類のRNAと約80種類のリボソームタンパク質(RP)から構成されている。個体の正常な発育のためには、全てのRPの一对の遺伝子の両方が発現する必要があると考えられている。著者らのグループは、ヒトの全RP遺伝子のマッピングを行ない、X染色体上に4つの遺伝子が存在すること、さらに、そのうちの一つであるRPS4XはY染色体上に相同遺伝子をもつことを報告した。本研究は、残り3つのX染色体上にマップされるRP遺伝子が、一方のみで充分量の発現を行なうのか、また他の相同遺伝子が存在するのかを明らかにするため行なわれたものである。

2 研究内容

DNA配列データベース上の相同配列検索プログラムを用いて、X染色体上にのみマップされるRPL10、RPL36A、RPL39遺伝子の類似配列を抽出した。さらに、これらの発現データベースに対する相同性の確認を行ない、各々一つの遺伝子を同定し、それぞれRPL10L、RPL36AL、RPL39Lと命名した。これらは、コード領域にイントロンを持たないことから、レトロ転位によって生じた遺伝子であると判断した。さらに、これら遺伝子は、X染色体上の遺伝子とは異なる5'非翻訳領域を持ち、その一部に3つの遺伝子間で類似性が認められたことから、この領域は発現性の獲得に関係する配列であることが示唆された。

また、Northern blotting法、RT-PCR法にて遺伝子の発現を確認し、RPL36ALが多くの臓器で広く発現しているのに対し、RPL10L、RPL39Lが精巣特異的に発現していることを明らかにした。

備考 1 用紙の規格は、A4とし縦にして左横書とすること。

2 要旨は800字~1200字以内にまとめること。

3 *印は記入しないこと。

3 研究の成果と意義と学術的水準

これまで、一般に高等動物の RP 遺伝子はイントロンを持ち、タンパク質をコードしている領域にイントロンが無いものはレトロ転位によって生じた偽遺伝子であると考えられてきた。

本研究は、高度な配列解析手法により、コード領域内にイントロンが無いにも関わらず機能している遺伝子を発見し、その発現を実験的に確認したもので、リボソームタンパク質と疾患との関係のみならず、進化の仕組みを考える上でも重要な研究であり、その学術的水準は高い。

以上により、本研究は学位授与に値するものであると判断した。