

氏名(本籍)	なが さき ひで き (東京都) 長 崎 英 樹 (東京都)
学位の種類	博 士 (理 学)
学位記番号	博 乙 第 2244 号
学位授与年月日	平成 18 年 11 月 30 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
審査研究科	生命環境科学研究科
学位論文題目	Computational Analysis of Alternative Splicing and Transcriptional Initiation Patterns (選択的スプライシングおよび選択的転写開始パターンの計算機解析)

主 査	筑波大学教授	理学博士	林 純 一
副 査	筑波大学教授	理学博士	漆 原 秀 子
副 査	筑波大学教授	学術博士	橋 本 哲 男
副 査	京都大学大学院情報学研究科教授	理学博士	後 藤 修

論 文 の 内 容 の 要 旨

近年、様々な生物のゲノム塩基配列の解読が完了している。各生物のもつ遺伝子の総数も判明してきており、特にヒトにおいては総遺伝子数約 25,000 と当初の予測に比べ大幅に少ない数が見積もられている。そのため、転写産物の多様性を生み出す機構として、選択的スプライシング (AS) および選択的転写開始 (ATI) に注目が集まっている。これらの現象 (ASTI) は異なる組織間や分化、発生の段階でみられ、遺伝子発現の調節機構のひとつとして重要な役割を担う。実際、最新の技術を用いた実験から、ヒトの複数エキソンからなる遺伝子のうち、約 75% が AS による転写産物を生成すると報告されている。

本研究は、解読されたゲノム配列と完全長 cDNA 配列とのあいだのアラインメントを行うことにより、各転写産物に対応する遺伝子のエキソン-イントロン構造をまず明らかにした。次に、エキソン-イントロンの状態を 1 と 0 の 2 進数に置き換え、その配列の違いから ASTI パターンの最小単位 (ユニット) を簡便に検出して、カセット型、選択的 5'/3'、スプライス部位型、イントロン保持型などのタイプ (型) に分類する計算機アルゴリズムを開発した。たとえば、カセット型は 2 進数で (10001, 10101) と表現される。これにより、従来は研究者ごとにまちまちに定義されていた ASTI パターンの分類が、厳密、自動的、かつ効率的に行えるようになった。

上記方法を用いることにより、ヒト、マウス、ショウジョウバエ、線虫、シロイヌナズナ、イネという哺乳類、昆虫、線形動物、植物を代表する 6 生物種における ASTI の網羅的検出とタイプ分類を試みた。ヒトにおいては、11,498AS および 4,627ATI ユニットが検出され、それぞれ 127 および 52 の型に分類された。これらの AS タイプには代表的なもの他に多数の非典型的な型が含まれていた。非典型的な AS タイプはヒトで最も多く見出され、検出された AS ユニットのうちの 16% がそのいずれかに属していた。哺乳類ではカセット型が最多である一方、昆虫、植物ではイントロン保持型が最も多く見られる等、ASTI 各タイプの割合は各生物種に特徴的であり、特に動物と植物の間では大きな差異が見出された。このことは、両者における ASTI の生成機構や役割の違いを反映しているものと考えられる。

AS 産物を生成する遺伝子 (AS 遺伝子) としない遺伝子の割合が生物種間で一定か否かについて、cDNA

の部分塩基配列である EST を用いた従来の解析では結論に至っていない。本研究は、使用した完全長の cDNA データから無作為に一定数の cDNA クローンを抽出して、これらが AS 変異を持つ割合の傾向を 6 生物種間で比較した。その結果、近縁種間においてよく似た傾向を示し、哺乳類およびショウジョウバエでは植物や線虫に比べ AS 遺伝子の割合が有意に高いことを推定した。

本研究はまた、遺伝子上の AS ユニットの位置と翻訳領域との関連を調べ、イントロン保持型を除く AS ユニットの多くが翻訳領域と重なり、80%以上の AS ユニットがタンパク質のアミノ酸配列に直接変化をもたらすことを示した。その際、エキソン長の差は 3 の倍数になることが多く、特に哺乳類の場合、60%以上が読み枠のずれを起こさないことも示した。

このようにして得られた解析結果は、複雑な ASTI パターンも表示可能な JAVA アプレットによるビューワを備えたデータベース、ASTRA (Alternative Splicing and TRanscription Archives) を通して一般に公開している (<http://alterna.cbrc.jp>)。ASTI は真核生物遺伝子の転写および転写後プロセスにより転写産物の構造が多様化するという生命現象の複雑さを表す現象である。その多様性を視覚的に表示し、配列情報等を提供する ASTRA は、ゲノム解析に続くトランスクリプトーム、プロテオーム解析、または個々の ASTI 遺伝子の解析の基盤として貢献できるものと考えられる。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、ゲノムワイドな ASTI の検出と自動的なタイプ分類を行うための新規計算手法を開発した。これを通じて、従来知られていた代表的な型以外にも多くの非典型的 ASTI 型が存在することを世界で初めて実証した。同時に、ゲノム配列の解読が終了したいくつかの生物種に開発手法を適用することにより、代表的真核生物における ASTI 現象の種特異性を明らかにした。これらの解析を通じて、真核生物の構造的・機能的複雑性の増大に ASTI が強く関与することを明らかにした。また、このようにして得られた結果を一般に公開するため、GUI を備えたデータベースも開発している。これらの成果は当該分野の今後の展開に大きく寄与できるものと期待される。

よって、著者は博士 (理学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。