

氏名(本籍)	さいとうしんいち (山形県)		
学位の種類	博士(理学)		
学位記番号	博乙第2418号		
学位授与年月日	平成21年2月28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	<b>Identification and Functional Analysis of Non-coding RNAs in <i>Bacillus subtilis</i></b> (枯草菌における非翻訳型 RNA の同定と機能解析)		
主査	筑波大学准教授	理学博士	中村幸治
副査	筑波大学教授	理学博士	漆原秀子
副査	筑波大学教授	博士(医学)	千葉智樹
副査	筑波大学教授	理学博士	沼田治

### 論文の内容の要旨

機能性非翻訳型 RNA (ncRNA) は、原核、真核生物問わず多くの生物種で同定されている。それらが様々な生命現象において重要な機能を有していることが明らかとなっており、ncRNA による新しい遺伝子発現制御メカニズムが次々と提唱されている。それらの機能は、複製、転写、翻訳、さらには、翻訳後のタンパク質の機能発現などあらゆる段階の生命現象に関わっている。従って、ncRNA の機能解明は、遺伝子発現制御ネットワークを包括的に理解する上でも重要な課題である。

本研究では、枯草菌 (*Bacillus subtilis*) を用いて、遺伝子間領域 (IGR) に焦点を当て、枯草菌ゲノムの IGR を、そのサイズによって 500 塩基対 (bp) 以上または 100-500bp とに分け、それぞれについて発現解析による新規 ncRNA の探索及び機能解析を行った。まず、枯草菌ゲノムの全 IGR のうち、長さが 500bp 以上である 123 ヶ所の IGR について発現解析を行った。その結果、7 種類の新規 RNA (BsrC RNA, BsrD RNA, BsrE RNA, BsrF RNA, BsrG RNA, BsrH RNA 及び BsrI RNA) のコード領域を同定した (それぞれ、sraA6, sraA7, sraA61, sraA62, sraA72, sraA80 及び sraA101 と命名した)。RNA の発現が検出された 7 つの IGR を、相同配列がない大腸菌に導入して発現解析を行った結果、BsrD RNA を導入したものを除いて、枯草菌と同様の大きさのバンドが検出された。プライマー伸長解析による 5' 末端解析の結果、BsrD 以外の 6 つの RNA の転写開始点を決定した。さらに、塩基配列解析の結果、 $\sigma^A$  認識モチーフ及び転写ターミネーターの位置が推定された。以上の結果より、同定した領域は、独立した転写単位を持つ低分子 RNA をコードする遺伝子であること結論した。

同定した RNA 遺伝子について、経時的な発現解析を行った結果、BsrC RNA は、対数増殖中期に特異的に発現しており、BsrD 及び BsrI RNA は、対数増殖初期から定常期まで発現していた。BsrH RNA は、生育が進むにつれて発現量が上昇していたが、BsrE RNA, BsrF RNA 及び BsrG RNA は、対数増殖中期から後期にかけて発現した後、減少した。6 つの RNA 遺伝子欠損株を作製して生育に対する影響を解析した結果、これらの RNA は、LB 液体培地中での生育には関与しないことが明らかとなった。さらに、その配列内に SD 配列を持たないことから、翻訳を受けずに機能する ncRNA であることが示唆された。

本論文で得られた結果をさらに詳細に解析することにより、枯草菌における ncRNA の機能解析が進むと予想され、さらに、機能が未知なものが多い ncRNA の機能解明に寄与するものとして重要である。

### 審 査 の 結 果 の 要 旨

近年、ncRNA による遺伝子発現制御機構の新しいメカニズムが、提唱されており、さまざまな生命現象において重要な機能を遂行していることが明らかとなってきた。非翻訳型 RNA の配列には、相同性があるものは少なく、機能が同一と予想されても、生物種間で、大きさや配列に大きな相違がある。また、実験室レベルでの培養や生育環境では、遺伝子破壊の影響は、見いだされにくく、機能の解明は、難解である。従って、1つの生物を対象にして、理論的及び実験的なアプローチを駆使して、解析することが必要と考えられる。本論文によって、新規の非翻訳型 RNA の候補が発見され、その機能解析の端緒に至った点は重要であり、いまだ未知な部分が多い非翻訳型 RNA による遺伝子発現制御機構を解明する上で、多大なる寄与をすることが期待できる。

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。