

論文審査の結果の要旨

氏名 長田直樹

本研究では、第1章でカニクイザル新規遺伝子の同定ならびにそのヒト相同遺伝子の配列決定、第2章でヒトとカニクイザルとの完全長cDNA配列の比較、第3章でヒトとカニクイザルとの進化において正の淘汰を受けた遺伝子の探求を行っている。ヒトのゲノム進化を解析するうえで、近縁のサル類との比較解析は必須であるので、以上の三点を中心にカニクイザル脳由来cDNAライブラリーの解析を行い、その有用性を示した。

ヒトのゲノム配列がほぼ明らかになり、ヒトの遺伝子は30,000から40,000と推定されるようになった。しかしながら、ヒトのような高等哺乳類においては、短いエキソンが長いイントロンに分断されて存在するために、ゲノム配列のみから遺伝子領域を完全に予測することは不可能である。したがってゲノム配列だけでなく、cDNAの全長または部分配列などにより遺伝子を予測することが必要となる。本研究ではカニクイザルとヒトの遺伝子の相同性の高さと、脳では他の一般的な組織よりも多くの種類の遺伝子が発現していることに注目して、カニクイザル脳を用いて新規遺伝子の探索を行った。作製したカニクイザル脳由来cDNAライブラリーから5'末端配列が遺伝子として公共のデータベースに登録されていないクローン約1,500についてその全長配列を決定し、解析をおこなった。その結果194の新規カニクイザル遺伝子が発見された。これらのcDNAから翻訳されるタンパク質のアミノ酸配列とその機能についても予測した。更に29の遺伝子についてヒトゲノム配列からヒトでの遺伝子配列を予測し、そのうち21遺伝子についてはRT-PCR法によってヒトの新規遺伝子として発現を確認した。これを第1章でまとめている。

次に、新規遺伝子探求の過程で全長配列を決定したカニクイザルcDNA配列を解析した結果、306クローンについては既知ヒト遺伝子のコード領域と相同性が見られた。これら306組にGenbankデータベースから得られたカニクイザル遺伝子配列とそのヒト相同配列74組を加え、ヒトとカニクイザルとのcDNA塩基配列比較を行った。その結果、塩基配列の相違度は高い順から、同義サイト(synonymous site)、3'末端非翻訳領域(3'-UTR)、5'末端非翻訳領域(5'-UTR)、翻訳領域平均(CDS)、非同義サイト(non-synonymous site)であることがわかった。これを第2章にまとめている。

近年の遺伝子情報の増加にともない、霊長類の進化の過程において進化速度が速い、つまり正の淘汰を受けていると考えられる例が発見されてきている。そのような遺伝子では翻訳領域の非同義置換率(Ka)が同義置換率(Ks)を上回ることが知られている。そこでカニクイザル脳由来cDNAライブラリーのうち、5'末端配列21,302のうち全長配列決定をしたcDNA配列1,320について、ヒトの遺伝子データベースから相同配列を検索し、ヒト、サルの二配列を整列させたあとにKa/Ksを算出した。Ka/Ksが1以上のクローンについては全長配列を決定し、再度Ka/Ks値を算出した。その結果12個の遺伝子についてKa/Ks値

が1を上回り、正の淘汰を受けた遺伝子として候補に挙げられた。そのうち5つはミトコンドリアの酵素複合体で働く核由来のサブユニットであった。これは、進化速度が速いミトコンドリア由来遺伝子と核由来遺伝子とが共進化を行うという説を支持する結果となった。これらの遺伝子については本研究で新たに明らかにされた結果である。ミトコンドリア遺伝子群のうちシトクロームc酸化酵素(Cytochrome oxidase c subunit)は、10の核由来、3つのミトコンドリア由来のサブユニットで構成されており、そのうちI, II, IVa, VI, VIIaの5つのサブユニットでは霊長類の系統で進化速度の加速が発見されている。今回新たに候補として見つかったサブユニットVIIc, VIIIについてはまだ進化に関する報告がされていない。本研究ではこれらの候補遺伝子探求の結果を評価した結果、サブユニットVIIc, VIIIの両方でヒト上科と旧世界ザルの系統において塩基配列の置換速度の加速が見られた。これにより、新たに2つのサブユニットが霊長類進化の過程で正の淘汰を受けている可能性を新たに明らかにした。

以上のようにオリゴキャッピング法によるカニクイザル脳由来cDNAライブラリーは、ヒト以外の霊長類におけるゲノム解析に非常に重要なリソースであることを明らかにした。

なお、本論文のうちの第1、2章は、肥田宗友、楠田潤、田沼玲子、伊関可奈子、平田誠、数藤由美子、平井百樹、寺尾恵治、鈴木穰、菅野純夫、橋本雄之との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析および検証をおこなったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士(理学)の学位を授与できると認める。