

論文審査の結果の要旨

氏名 片山 慎太郎

本論文は 2 章からなり、第 1 章はアンチセンス転写と mRNA-like noncoding RNA (ncRNA) の関係性に関する統計的解析、第 2 章は転写開始点レベルでの発現プロファイリング技術開発について述べられている。

近年のゲノムおよびトランスクリプトームに関する研究によって、アンチセンス転写という現象と、ncRNA という新しいトランスクリプトの存在が知られるようになった。アンチセンス転写とは、ゲノム DNA のある方向（センス）から RNA を転写している領域に対し、逆方向（アンチセンス）から重なり合うように転写が行われる現象である。また ncRNA とは、タンパク質の鋳型がコードされている mRNA と同様に転写された RNA であるものの、鋳型となる部分が非常に短く、機能的なタンパク質の鋳型として機能することが疑われる RNA である。しかしこれまで、アンチセンス転写と ncRNA の関係性について解析された事はなかった。

そこで論文提出者はまず、マウスの mRNA および ncRNA から単離した cDNA とマウスゲノム DNA のデータから、アンチセンス転写と ncRNA の関係性について考察した。その結果、マウスゲノム中に mRNA とほぼ同数の ncRNA のコード領域が存在し、それらはゲノム DNA の混入によって導かれた artifact ではなく、またそれらの 23%（端読み配列を含めた解析では 59%）がアンチセンス転写となる事を明らかにした。また mRNA と ncRNA は 5'端同士が重なるか、もしくは完全に重なり合うようなペアを作る傾向にあって、5'端同士が重なり合うペアは共発現する傾向にある事を明らかにした。さらに共発現しているアンチセンス転写についていくつか取り上げ、センス側の転写とアンチセンス側の転写は、互いに制御関係にある例を示した。

以上の結果から、mRNA および ncRNA について、その発現の様相を転写開始点レベルで測定する事は、アンチセンス転写および ncRNA の機能解析において重要である。そこで論文提出者は、mRNA および ncRNA の 5'端に存在するキャップ構造からラベルし

たトランスクリプトを、既知の転写開始点直下流にあたるゲノム DNA 配列を元にデザインしたプローブへ hybridization させることで、転写開始点レベルでの発現プロファイルを得られる CAGE-TSSchip というマイクロアレイを開発した。プロトコルの安定性は dye-swap 間の比較で示し、信頼性は qRT-PCR および CAGE 法との比較によって示した。さらに、正常組織と癌由来細胞株の比較による発現制御エレメントのスクリーニングと、5'端同士が重なり合うようなセンス・アンチセンスペアの転写開始点レベル発現プロファイリング、2つのケーススタディを行った。

本研究の主な成果は、アンチセンス転写がゲノム上の多くの領域に存在し、かつアンチセンス転写に ncRNA が深く関与していることを示したことである。またアンチセンス転写による制御関係の例を示したことで、アンチセンス転写および ncRNA の機能について新しい知見をもたらした。

なお本論文第 1 章は、外丸靖浩、粕川雄也、脇和規、中西美聡、中村真理、西田洋巳、Chan C. Yap、鈴木正則、河合純、鈴木治和、Carninci Piero、林崎良英、Christine Wells、Martin Frith、Timothy Ravasi、Ken C. Pang、Jennifer Hallinan、John Mattick、David A. Hume、Leonard Lipovich、Serge Batalov、Pär Engström、水野洋介、Mohammad A. Faghihi、Albin Sandelin、Alistair M. Chalk、Salim Mottagui-Tabar、Zicai Liang、Boris Lenhard、Claes Wahlestedt との共同研究であり、また本論文第 2 章は、金森睦、山口一美、Carninci Piero、林崎良英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行ったもので、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（生命科学）の学位を授与できると認める。