

名古屋市立大学 博士学位論文

シロイヌナズナ由来ストレス応答性の
新規長鎖ノンコーディング RNA に関する研究

2012 年

呉 娟

名古屋市立大学大学院システム自然科学研究科

要 旨

近年、幅広い生物のゲノム中にタンパク質をコードしない非コード RNA (non-coding RNA: ncRNA) の存在が明らかとなった。それらの中では miRNA や siRNA など、遺伝子発現制御に関連している RNA の研究が主として報告されているが、未だに多くの ncRNA の機能が不明のままである。

本研究では、顕花植物において重要な機能をもつ新規 ncRNA を発見するために、RNA ポリメラーゼ III (Pol III) とその転写活性に着目した。一般的に Pol III によって転写される RNA の多くは細胞の生命活動の過程で重要な役割を果たしている。また、その遺伝子には保存性が高い植物特有の転写制御シス配列として USE 配列 (Upstream Sequence Element) と、その下流に位置する TATA 配列、転写終結シグナルとなりうる 4塩基以上のポリ T ストレッチ配列が含まれる。この保存配列をもとにシロイヌナズナゲノムデータに対して *in silico* 探索を行い、20 個の新規の ncRNA 候補を得た。その中で AtR8 RNA (約 260 nt) と AtR18 RNA (約 160 nt) は、タバコ由来の *in vitro* 転写系により効果的に Pol III によって転写された。6 種のアブラナ科植物からは AtR8 RNA のオースログが見つかり、その 2 次構造は高度に保存されていた。ノーザンブロット解析、ホールマウント *in situ* ハイブリダイゼーション解析 (WISH)、蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション解析 (FISH) により、AtR8 RNA がシロイヌナズナの根の先端と MM2d 培養細胞の細胞質に多く蓄積する特徴が確認された。また、グリセロール密度勾配遠心などの生物化学解析により、AtR8 RNA がタンパク質と複合体を形成することも明らかとなった。AtR8 RNA にはペプチドをコードする sORF が 3ヶ所存在するが、どれもが種を超えて保存されてはいなかった。また、RNA プロセッシングを受けより小さな RNA を生じる前駆体としではなく、長い RNA 分子のままで存在することが示された。興味深いことに AtR8 RNA の蓄積は低酸素ストレスに応答して減少するが、同じプロモーター構造を持つ U6 snRNA の蓄積とは明らかに異なっていた。この点に関して AtR8 RNA 遺伝子近傍の遺伝子構成をみたところ、この遺伝子がグルタチオン S-トランスフェラーゼ (GST) 遺伝子クラスターの中に存在していることを見出した。さらに AtR8 RNA と GST 遺伝子の 1つが転写レベルで互いに影響を与えていることを発見した。以上の結果より AtR8 RNA はアブラナ科に存在する低酸素応答性の新規性の long non-coding RNA で、植物の細胞機能調節に係わっている可能性を見出した。

博士論文審査結果の要旨及び試問結果の要旨 ㊦

論文提出日	平成24年 1月 20日
学位試験日	平成24年 2月 22日

論文提出者	呉 娟				
博 士 論 文 審 査 結 果					
学 位 審 査 委 員	主 査	湯 川 泰	副 査	木藤 新一郎、鎌田 直子、小保方 潤一（京都府立大学・教授）	
主論文題目	シロイヌナズナ由来ストレス応答性の新規長鎖ノンコーディングRNAに関する研究				
論文審査の結果の要旨 植物から新しいノンコーディングRNAを発見し詳細な解析を行った結果、RNAが関わる生理機能や遺伝子発現制御についての新知見を得るに至った。研究は、緻密に組み立てられており、得られた結果には説得力があり、ゲノム機能の理解に向け新たな研究領域を広げた功績を評価する。副論文が英文専門誌に受理されていることも含め、博士の学位にふさわしいと判断する。					
学力確認のための試問の結果					
試問担当者 氏名	主 査	湯 川 泰	副 査	木藤 新一郎、鎌田 直子、小保方 潤一（京都府立大学・教授）	
試問の科目			方 法	判 定	
専攻学術			口 頭	合 格	
研究主題			口 頭	合 格	
外国語			免 除	合 格	
(試問の結果の要旨) 上記試問の結果、博士課程を経て、博士の学位を授与される者と同等以上の学力を有することを確認した。 試問実施日 平成24年 2月22日					
(学力確認のための試問の結果の詳細) 1 専攻学術及び研究主題試問について 学歴、研究歴及び論文目録の内容を検討した結果、口頭による試問を行い、相当水準以上の学力があると認めた。 2 外国語についての試問 英語による学会発表および英文専門誌への投稿実績を踏まえ、相当水準以上の学力があると認め、免除した。					