

審査の結果の要旨

氏名 フォウジア ヤスミン

21世紀になってからのヒトゲノム解読の完了、ならびにトランスクリプトーム解析の発展によって、ヒトゲノムの大部分から機能未知の転写産物が大量に発現していることが分かった。これら新規の転写産物は、アミノ酸の一次配列情報をコードするポテンシャルが低いいため、タンパク質情報をコードしないノンコーディング RNA として命名された。GENCODE 計画の最新の情報では、ヒトゲノムは2万弱のタンパク質コード遺伝子を持つが、ノンコーディング RNA をコードする遺伝子は3万種類近く存在するとされている。この数字は比較的アノテーションがはっきりしたノンコーディング RNA 遺伝子であり、今後の研究の進展によって、ノンコーディング RNA 遺伝子の数はますます増加して行くと予想されている。

ここで、そもそもノンコーディング RNA とはどのような基準で決まったのか？という極めて基本的かつ重要なポイントにヤスミン氏は興味を持った。従来、機能未知 RNA が見いだされた場合、それらが一般的なタンパク質が機能を持つために必要なサイズとして100アミノ酸程度を要求することに基づき、タンパク質をコードする読み枠 (Open Reading Frame, ORF) が300塩基以上あることを基準としてきた。この基準に基づき、300塩基以上の ORF が予測されない RNA はすべてノンコーディング RNA として分けられてきた。しかしながら、これは絶対的基準では無く、事実、ペプチドホルモンなど、100アミノ酸以下の機能的タンパク質は多数存在する。

そこで、近年の次世代シーケンス技術を活用し、mRNA の翻訳活性を測定する ribosome profiling 法と polysome profiling 法のデータから、もともとノンコーディング RNA として分けられていたが、リボソームによって翻訳される RNA が存在するかを検討した。ヤスミン氏は、このような RNA (最初から mRNA あるいはノンコーディング RNA かるかを決めることができないという意味を含めて) を TUF (Transcripts with unknown function) と呼び (この名称そのものは以前にも使用されていた)、それらが翻訳され得るかを検討した。その結果、短いペプチドをコードする新規 RNA として61個の RNA を TUF として特定するに至

った。

細胞内には、不要な RNA を分解排除する仕組みとして、nonsense-mediated mRNA decay (NMD)が存在する。そこで、新たに同定した 61 個の TUF が NMD で分解されるか否かを指標に、これらが機能性 RNA としてのポテンシャルがあるか否かを検討した。NMD 経路の必須因子である UPF1 をロックダウンした細胞を使った検討から、61 個中 45 個が NMD で分解されない、すなわち、機能性 RNA としてのポテンシャルがあることがわかった。

次に、45 個の TUF の中から、比較的発現量の高い 2 つの RNA (LINC00493 と LINC00998) に着目した解析を行った。まず、ルシフェラーゼレポーターを用いて、2 つの TUF 中の ORF が翻訳活性を持つか否かを検討した。その結果、確かに 2 つの TUF 中の ORF が翻訳活性を持つことをヤスミン氏は示した。さらに、これら 2 つの TUF 中の ORF に FLAG タグを付けたタンパク質発現プラスミドを構築し、実際に細胞内発現をするかを検証した。その結果、LINC00493 からのペプチド発現をウエスタンブロットで確認できた。その後、ヤスミン氏は LINC00493 にフォーカスして研究を進めた。

まず、LINC00493 ペプチドの生理機能を予測するため、LINC00493 ペプチドを免疫沈降法で回収し、質量分析法で相互作用するタンパク質を特定した。その結果、LINC00493 ペプチドが多くの中分子タンパク質と相互作用するとの結果を得た。そこで、ヤスミン氏は、LINC00493 ペプチドがミトコンドリアに局在するとの仮説を立て、免疫染色法でこの仮説を検証した。その結果、LINC00493 ペプチドが確かにミトコンドリアに局在化するとの証拠を得た。さらに、LINC00493 ペプチドと相互作用するタンパク質がアポトーシス関連分子でもあったことから、ヤスミン氏は LINC00493 ペプチドがアポトーシスに関連した分子との仮説を提唱するに至った。

以上に述べたように、ヤスミン氏は、多数の新規 RNA を発見した。さらに、そのうちのひとつである LINC00493 がペプチドをコードすることを示した。さらに、LINC00493 ペプチドがミトコンドリアに局在化し、アポトーシスと関連する可能性を提唱するに至った。この研究は、ヒトゲノムの機能解明に大きく貢献する内容である。さらに、ペプチドは中分子創薬のシーズともなるため、新たなペプチドの発見は創薬研究に有用な情報を提供する。

よって、本論文は博士（薬科学）の学位請求論文として合格と認められる。