

[課程-2]

審査の結果の要旨

氏名 波多野敬子

本研究は、菌状核赤核・淡蒼球ルイ体萎縮症 (DRPLA) の原因遺伝子がコードする、DRPLA protein (DRPLAp) の転写co-regulatorとしての標的遺伝子を解明することを目的に、full length *DRPLA* 遺伝子を定常発現する培養細胞を用いたRNA-seq解析により、標的遺伝子を網羅的に探索したものであり、下記の結果を得ている。

1. ライン間で均一な発現環境を作ることを目的に、それぞれ 19 個、88 個のポリグルタミン鎖を有する GFP-full length DRPLA (Q19 or Q88) 遺伝子を Flp-In™ T-REx™ 293 細胞株の同一の FRT (Flp recombination target) 部位に挿入した細胞株を構築した。この細胞株では、GFP-DRPLA 融合遺伝子は Tet-On system 制御下で Doxycycline (Dox) 添加により定常発現させた。
2. Dox (+) or Dox (-) の 2 条件について、同時並行に 3 つの well を用いて培養し 1 set とした。各 set につき、Cufflinks 2 と edgeR の 2 つのソフトウェアを用いて有意な発現変動遺伝子を抽出し得た。
3. Q19 Dox (+) or Dox (-) の解析は、両ソフトウェアにおいて、4 set で共通する有意な発現変動遺伝子を抽出し、up-regulate が 9 遺伝子、down-regulate が 7 遺伝子であった。このうち 11 遺伝子に対して qRT-PCR を行い、全 11 遺伝子が validate された。
4. Q88 Dox (+) or Dox (-) の解析は、両ソフトウェアの解析において、3 set で共通する有意な発現変動遺伝子を抽出し、up-regulate が 17 遺伝子、down-regulate が 22 遺伝子であった。このうち 13 遺伝子に対して qRT-PCR を行ったところ、10 遺伝子が validate された。10 遺伝子のうち、7 遺伝子が down-regulate され、そのうち loss-of-function であることが示唆されているてんかんの病因遺伝子を含むことを指摘した。

以上より、本研究は DRPLAp の転写 co-regulator としての標的遺伝子を探索した。これまであまり注目されてこなかった DRPLAp の生理的な転写調節標的遺伝子につき、RNA-seq を用

いて網羅的に探索した研究である。今後、DRPLAが、今回見出した計21遺伝子の転写制御に直接的に影響を及ぼしていることと、21遺伝子の *in vivo* の神経系における発現変動の検証を行うことにより、DRPLAが mutant DRPLAによる gain-of-toxic-function 機序によるのか、loss-of-function 機序によるのかという点を含めた、今後の病態解明に重要な貢献をするものと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。