

氏 名	なか お みつ てる 中 尾 光 輝
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	論 理 博 第 1472 号
学位授与の日付	平 成 18 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	ヒト選択的タンパク質アイソフォームの分類に関する研究—遺伝子産物の多様性のパターン分類と局在化シグナルの相関解析

論文調査委員	(主 査) 教 授 金 久 實 教 授 大 野 睦 人 教 授 森 和 俊
--------	--

論 文 内 容 の 要 旨

申請者は、完全長 cDNA データとアミノ酸配列データベースのデータを補完的に用いることにより、ヒトの2,600以上の遺伝子について、各遺伝子座位から選択的スプライシングその他の機構によって生成されるタンパク質アイソフォームを網羅的に収集し、データベース化した。

次に、アミノ酸配列レベルでみたアイソフォームの多様性を把握するために独自のパターン分類法を考案した。この方法では、アミノ酸配列の N 末端側、内部、C 末端側に起こるそれぞれの変化（異なる配列が形成されるか、どちらかに余分な配列が挿入・欠失されるか、など）を符号化して記載する。その結果、最も多いアイソフォームは C 末端側に異なる配列をもつパターンと、内部に挿入（あるいは欠失）をもつパターンで、それらだけで全体の43%を、上位10パターンで80%を占めており、タンパク質アイソフォームの多様性は非常に限られたパターンによって大部分が占められた偏った分布であることを見いだした。また、C 末端領域の変化は N 末端領域と比べてずっと多いにもかかわらず、C 末端において配列が付け加えられる頻度は N 末端と比べて非常に少ないことが観察された。このことは、配列を N 末端側に伸長させるときには開始コドンに内部メチオニンとしてそのまま利用できるが、C 末端にある終止コドンの続きに配列を付け加えることができないという事情を反映しているものと解釈される。

さらに、各遺伝子座位において、どのようなパターンが一緒に現れやすいか（共起しやすいか）を調べたところ、単純なパターンの組み合わせ方に類型が見られ、遺伝子構造（エキソン・イントロン構造）の違いによって、生成されるアイソフォームのレパートリーが影響されていることを観察した。

次に、申請者は、タンパク質アイソフォームのパターン分類をもちいて、タンパク質アイソフォーム形成が、その機能ドメイン、特に局在化シグナルの使用にどの程度影響を与えているのかを解析した。すなわち、アイソフォームにおけるアミノ酸配列の変化がどの程度、局在化シグナルの有無の変化に相関しているかを統計的に調べてみた（シグナルの有無は予測プログラムによる予測結果を利用した）。その結果、たとえば小胞体移行を指示するシグナルペプチドの存在は N 末端相互排他型変化と有意に関連しているが、末端多様性全体でみるとそれほど強い相関がなく、末端が多様化しても別のシグナルペプチドを持ち続ける傾向が強いという結果を得た。これはシグナルペプチドの使い分けをアイソフォームの切り替えによって積極的には行っていないとも解釈できるが、これらのシグナルペプチドが異なるサブタイプに属しており、より細かい制御が行われている可能性も示唆される。このように、申請者は、ヒトのタンパク質アイソフォームの多様性に伴って、局在化シグナルの利用も様々な形で制御されている可能性を、ゲノムスケールデータにもとづき初めて示した。

なお、申請者の作成したタンパク質アイソフォームの分類とデータセットは、インターネットを通して公開されており、遺伝子機能解析において有用なリソースとしての利用が期待される。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

ヒトゲノムの塩基配列決定によって、ヒトを構成する全タンパク質をコードする遺伝子の数は、予想よりずっと少なく、

ただか2万個余りであるらしいことが明らかになった。この程度の数の遺伝子から、どのようにしてヒトのような複雑な生物が構成され得るのかに興味を持たれている。中でも、一つの遺伝子から複数の転写物やタンパク質産物を発現する多様性が、この謎を解く有力な手がかりを与えてくれるものとして注目されている。ヒトを含む高等真核生物では、選択的スプライシングや選択的プロモーター、選択的ポリアデニル化などの機構によって、一つの遺伝子座から複数種の mRNA 分子が転写され、そこから複数種のアミノ酸配列が翻訳される。これによって、一つの遺伝子から、マイナーチェンジを受けた多様なタンパク質（アイソフォーム）が合成されるが、この現象は大多数の遺伝子で起こっているらしいことが近年明らかになってきた。

従って、アイソフォーム形成の全貌を明らかにする必要があるが、従来の研究では、主にその生成メカニズムに注目して、選択的スプライシングのパターンを分類するなどの努力がなされてきた。しかしながら、遺伝子機能発現の実体としてのタンパク質分子の多様化の全貌をとらえるには、タンパク質配列レベルでの違いを直接調べる必要がある。

そこで申請者は、タンパク質アイソフォームにおける遺伝子産物の多様性の理解のために、タンパク質アイソフォームの一次構造上の多様性を定性的に分類する方法を開発した。そのためにまず、完全長 cDNA 配列データとアミノ酸配列データベースからヒト遺伝子のおよそ10%をカバーする大規模なアイソフォームデータベースを独自に構築した。アイソフォームにおける配列変化を独自の方法でパターン分類した結果、いくつかの新しい知見を得た。また、細胞内局在化シグナルの予測プログラムの結果などを用いて、アイソフォーム形成によって、タンパク質の細胞内局在化を制御している例は、相当数存在する可能性を初めて示した。

これらの結果は、ヒトプロテオームの構造と機能について、興味深い新次元を与えたものと評価できる。実際、本論文の主要な内容はすでに国際学術誌に掲載され、その論文は掲載月のダウンロード数がトップクラスを記録したということであり、申請者の研究のオリジナリティが国際的にも注目されていることを示している。

また、本論文に掲載された研究は、研究テーマの選択から、研究方法の着想、データベース構築とデータ解析、論文第一稿執筆に至るまで、ほぼ申請者によって独力で行われたものであり、本研究によって学位が与えられた後の、申請者の研究者としての活躍が十分期待できる。本研究のテーマはさまざまな方向に発展させていくことができるものと思われる。

以上の理由によって、本論文は博士（理学）の学位論文として価値あるものと認める。また、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。