

氏 名	藤 田 征 志
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	理 博 第 3213 号
学位授与の日付	平 成 19 年 11 月 26 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研 究 科 ・ 専 攻	理 学 研 究 科 生 物 科 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	終止コドン読み飛ばしの関連遺伝子と新規アミノ酸の探索

論文調査委員 (主 査) 教 授 金 久 實 教 授 阿 形 清 和 教 授 藤 吉 好 則

論 文 内 容 の 要 旨

終止コドンは原則的に翻訳の終結を指示するが、一部の遺伝子では読み枠内に終止コドンが存在しており、そのコドンの位置にアミノ酸が挿入される。この現象は、終止コドンの読み飛ばし（リードスルー）と呼ばれている。さらに、この終止コドンの位置に挿入されるアミノ酸は、しばしば通常の20種類のものとは異なる特殊なアミノ酸になっている。こうした特殊なアミノ酸としては、セレノシステインとピロリジンの二つが今日までに発見されている。本論文で申請者は、リードスルー現象について計算機を使った二つの解析を報告している。

本論文の前半は、真核生物のセレノシステイン合成酵素の予測である。セレノシステインの合成経路は、バクテリアでは解明されているが、真核生物における経路は不明であった。申請者は、真核生物における合成経路がバクテリアのものと相同であるという仮定の下に、真核セレノシステイン合成酵素の予測を行った。具体的には、遠縁のホモログを検出できる相同性検索プログラム PSI-BLAST の利用と、オーソログの種間分布を組み合わせることにより、自己免疫性肝炎と関係するタンパク質 SLA/LP が、真核セレノシステイン合成酵素の有力候補であることを発見した。この SLA/LP が実際にセレノシステイン合成酵素であることは、後に他の研究グループによって実験的に確認された。

本論文の後半は、「23番目のアミノ酸は存在するか」という疑問に答えるためのものである。セレノシステイン、ピロリジンともに通常の遺伝暗号の拡張ともいえる特徴を備えているため、それぞれ21番目、22番目のアミノ酸と呼ばれている。今日までに解読されたゲノムを計算機的に調査することによって、終止コドンにコードされた未知のアミノ酸を発見できないか、というのがこの解析の動機である。申請者は、終止コドンを読み枠内に一つ含むような ORF を原核生物のゲノム配列から網羅的に抽出し、その進化的保存度を調べることによって、リードスルーを起こす遺伝子を予測している。その結果21個のタンパク質ファミリーが、候補として選び出された。これらのうちの19個は、これまでにリードスルータンパク質であることが報告されているもの、あるいはその可能性が示唆されているものであった。残りの未知タンパク質ファミリー2個のうち、一方は偽陽性であることが強く疑われるものであったが、もう一方は新規セレンタンパク質の可能性が高いものであった。この遺伝子はヘム結合モチーフを5つ持つなど、興味深い配列上の特徴を備えている。

この新規セレンタンパク質候補を除けば、未知のリードスルー遺伝子の有力候補は発見されなかった。これは、現在ゲノムが解読されている原核生物中に23番目のアミノ酸が存在している可能性が低いことを示す。また申請者は、tRNA 遺伝子の観点からも未知のアミノ酸の可能性を調査し、同様に否定的な結果を得ている。申請者はこれに基づいて、未知のアミノ酸は存在しないか、あっても生物界におけるその分布は極めて狭いだらう、と推論し、終止コドンの進化についての考察を行っている。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文は、前半の真核セレノシステイン合成酵素の予測と、後半の新規アミノ酸探索に分けることができる。前半部は、

相同性検索に基づいた候補遺伝子の予測についてである。特定の生物学的プロセスに関与する遺伝子を実験的に絞り込み、同定していく過程はしばしば大きな困難を伴う。インフラ整備としてのゲノム解読が進むことにより、この過程が少しでも容易になっていくことが望まれる。特に計算機を用いた予測の比重が大きくなることが期待されるが、本研究はこの流れに沿ったものになっていると言えよう。手法としてはオーソドックスな相同性検索に基づいているものの、単純なBLAST検索では候補が発見できなかったため、申請者は専門的な工夫を凝らしている。一つは遠縁のホモログを検出できるPSI-BLASTの利用、もう一つは遺伝子の種間分布パターンの利用である。どちらの手法も単独では新規性がないものだが、両者を組み合わせることによって正しい酵素遺伝子を発見することに成功している。バイオインフォマティクスによる候補遺伝子予測の有用性を示す一例である。

後半部で申請者は、23番目のアミノ酸の探索という野心的な研究題目に挑戦している。学術的に興味深いテーマであり、また蓄積されたゲノムデータを利用した時宜を得た研究である。探索のために申請者が選んだ手段、即ちtRNAとタンパク質遺伝子の両面から独立に調査する方法も理にかなっている。新規性という点から見ると、tRNAの解析には先行研究が存在している。しかしながらタンパク質遺伝子の解析は、従来のリードスルー研究の成果を踏まえつつもこの問題に適した独自の手法を開発したものであり、優れたものといえる。タンパク質遺伝子からのアプローチは、本論文中に記されているように様々な困難を伴うと考えられるが、申請者はリードスルータンパク質の配列上の特徴を巧みに利用してそれらに対処している。23番目のアミノ酸の存在についての結論は否定的なものであったが、こうした知見も学術的には重要である。また申請者の手法は、23番目のアミノ酸を予測するためだけでなく、一般のリードスルータンパク質を予測する手法としても応用可能である。この観点からいうと、本論文の手法は従来の予測法にはない長所を幾つか備えている。その有用性は、解析の副産物として新規セレンタンパク質の候補が得られたことに現れている。

申請者が行ったリードスルー関連遺伝子の解析は、基礎的な研究成果として高く評価できるだけでなく、ゲノム注釈のツールとして応用面でも有用であると考えられる。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。なお、論文内容とそれに関連した試問の結果、合格と認めた。