

学位論文題名

ゲノム情報に基づく  
pre-mRNA スプライシングに関する研究

学位論文内容の要旨

2003年4月、ヒトゲノムの解読が遂に完了し、約30億塩基からなるDNAの全塩基配列が決定された。解読完了に伴い、DNA上の遺伝子発見など、塩基配列をあらゆる角度から解析する研究が始まっている。本研究ではゲノム情報を基にスプライシングと呼ばれる現象に着目する。細胞内の蛋白質合成には2つのステップがある。はじめにDNA上の遺伝子の情報を基にpre-mRNAからmRNAが合成される(転写)。次に、転写されたmRNAの塩基の並びの3個が一組となってアミノ酸を指定し、蛋白質が合成される(翻訳)。スプライシングとは、転写の過程でmRNAからpre-mRNAが合成される際、遺伝子としての情報をもたない部分(イントロン)を切り捨て、情報を担う部分(エクソン)だけをつなぐRNAプロセッシング機構である。エクソンとイントロンの境界を5'スプライスサイト、イントロンとエクソンの境界を3'スプライスサイトと呼ぶ。スプライスサイトの塩基配列に異常が生じた場合、機能を欠いた蛋白質が産生され、種々の疾患、特に難治性神経疾患の発症の原因となる場合がある。

本論文は高等真核生物であるヒト、マウス、ショウジョウバエ、シロイヌナズナ、イネのpre-mRNAを用いて、スプライスサイトの配列の特徴を調べることを目的としている。全6章で構成され、各章の概要は以下の通りである。

第1章では、スプライシングに関する研究の背景と研究の目的について述べている。

第2章では、GT-AGイントロン(GTで始まり、AGで終わるイントロン)、及び、GC-AGイントロンのスプライスサイトの配列解析について述べている。哺乳類のGT-AG(98.71%)、及び、GC-AG(0.56%)スプライスサイトでは共にU2依存型スプライセオソームによるスプライシングが起こることが報告されている。また、哺乳類のGC-AGイントロンの5'スプライスサイトの9塩基からなるコンセンサス配列の信号は強いことも報告されている。本研究では、情報学的手法により完全長cDNAをゲノムにマッピングして得たpre-mRNAをデータとして用いて解析を行った。結果として、従来報告されている哺乳類のヒトとマウスだけではなく、新た

に昆虫類のショウジョウバエ、植物のシロイヌナズナ、イネでも GC-AG の 5' スプライスサイトのコンセンサス配列の信号は強いことが確かめられた。また、植物のシロイヌナズナとイネでは GT-AG、及び、GC-AG グループの第 1 イントロンの 5' スプライスサイトのコンセンサス配列の塩基頻度が中間、最終イントロンとは異なる傾向がみられた。

第 3 章では、スプライスサイト周辺 (-200 から +200 塩基) の 1 塩基及び、2 塩基の頻度解析について述べている。結果として、ヒト、マウス、及び、イネの pre-mRNA では第 1 イントロンの 5' スプライスサイト周辺の塩基の頻度は中間、及び、最終イントロンの 5' スプライスサイト周辺の塩基の頻度とは異なる傾向があることがわかった。

第 4 章では、恒常的、及び、選択的スプライスサイトのコンセンサス配列の比較解析について述べている。選択的スプライシングとは、1 個の pre-mRNA から複数の mRNA が産生され、機能の異なるタンパク質として発現する現象である。結果として、従来報告されているように、ヒトでは選択的スプライスサイトにおいて GC-AG の 5' スプライスサイトのコンセンサス配列の信号は弱いことが本研究でも確認された。今回、新たにマウスでも解析を行ったが、マウスでは同様の傾向はみられなかった。

第 5 章では、5' スプライスサイト類似配列の分布解析について述べている。ここでは 5' スプライスサイトの配列と同一の長さ 9 塩基の配列を 5' スプライスサイト類似配列と定義し、次の解析を行った、即ち pre-mRNA 上の 5' スプライスサイト以外の位置における類似配列の分布を調べた。結果として、哺乳類では 5' スプライスサイト上流のエクソン内部に、植物ではエクソン内部の他にイントロンの 5' 側でも 5' スプライスサイト類似配列の頻度は低いことがわかった。昆虫類では哺乳類、植物と異なる類似配列の分布を示している。

最終章では、本論文の結論と今後の課題が述べられている。本研究の結果、以下のことが明らかになった。(1) 哺乳類だけではなく、昆虫類のショウジョウバエ、植物のシロイヌナズナとイネでも GC-AG イントロンの 5' スプライスサイトのコンセンサス配列の信号は強い。(2) シロイヌナズナとイネでは GT-AG、及び、GC-AG グループの第 1 イントロンの 5' スプライスサイトのコンセンサス配列の塩基頻度は中間、最終イントロンとは異なる。(3) ヒト、マウス、イネの pre-mRNA では第 1 イントロンの 5' スプライスサイト周辺の塩基の頻度は中間、及び、最終イントロンとは異なる。(4) 3' スプライスサイトでは 5 種共にイントロンの位置による違いは殆ど見られない。(5) ヒトでは選択的スプライスサイトにおいて GC-AG の 5' スプライスサイトのコンセンサス配列の信号は弱い、マウスでは同様の傾向はみられない。

# 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 堤 耀 廣  
副 査 教 授 郷 原 一 寿  
副 査 教 授 石 政 勉

学 位 論 文 題 名

## ゲノム情報に基づく

### pre-mRNA スプライシングに関する研究

2003年、ヒトゲノムの解読が完了、約30億塩基からなるDNAの全塩基配列が決定され、DNA上の遺伝子発見など、塩基配列をあらゆる角度から解析する研究が始まっている。本研究ではゲノム情報を基にスプライシングと呼ばれる現象に着目している。細胞内では、はじめにDNA上の遺伝子の情報を基にpre-mRNAからmRNAが合成され(転写)、転写されたmRNAの塩基の並びの3個が一組となってアミノ酸を指定し、蛋白質が合成される(翻訳)。スプライシングとは、転写の過程でpre-mRNAからmRNAが合成される際、遺伝子としての情報をもたない部分(イントロン)を切り捨て、情報を担う部分(エクソン)だけをつなぐRNAプロセッシング機構である。本論文は、エクソンとイントロンの境界5'スプライスサイト、イントロンとエクソンの境界3'スプライスサイトでの特定の塩基配列に着目し、高等真核生物であるヒト、マウス、ショウジョウバエ、シロイヌナズナ、イネのpre-mRNAを用いて、スプライスサイトの配列の特徴を調べることを目的としている。

第1章では、スプライシングに関する研究の背景と研究の目的について述べた。

第2章では、GT-AGイントロン(GTで始まり、AGで終わるイントロン)、及び、GC-AGイントロンのスプライスサイトの配列解析について述べている。哺乳類のGT-AG(98.71%)、及び、GC-AG(0.56%)スプライスサイトでは共にU2依存型スプライセオソームによるスプライシングが起こること、また、哺乳類のGC-AGイントロンの5'スプライスサイトの9塩基からなるコンセンサス配列の信号が強いこと、が報告されている。本研究では情報学的手法により完全長cDNAをゲノムにマッピングして得たpre-mRNAをデータとして用い解析を行い、従来報告されている哺乳類のヒトとマウスだけではなく、新たに昆虫類のショウジョウバエ、植物のシロイヌナズナ、イネでもGC-AGの5'スプライスサイトのコンセンサス配列の信号の強いことが確かめられた。また、植物のシロイヌナズナとイネではGT-AG、及び、GC-AGグループの第1イントロンの5'スプライスサイトのコンセンサス配列の塩基頻度が中間、最終イントロンとは異なることを見出している。

第3章では、スプライスサイト周辺(-200から+200塩基)の1塩基及び、2塩基の頻

度解析について述べている。結果として、ヒト、マウス、及び、イネの pre-mRNA では第1イントロンの5' スプライスサイト周辺の塩基の頻度は中間、及び、最終イントロンの5' スプライスサイト周辺の塩基の頻度とは異なる傾向にあることを見出した。

第4章では、恒常的、及び、選択的スプライスサイトのコンセンサス配列の比較解析について述べている。従来報告されているように、ヒトでは選択的スプライスサイトにおいて GC-AG の5'スプライスサイトのコンセンサス配列の信号は弱いことが本研究でも確認された。また、新たにマウスでも解析を行ったが、マウスでは同様の傾向はみられていない。

第5章では、5'スプライスサイト類似配列の分布解析について述べている。5' スプライスサイトの配列と同一の長さ9塩基の配列を5'スプライスサイト類似配列と定義して、pre-mRNA 上の5'スプライスサイト以外の位置における類似配列の分布を調べた。結果として、哺乳類では5'スプライスサイト上流のエクソン内部に、植物ではエクソン内部の他にイントロンの5'側でも、5' スプライスサイト類似配列の頻度は低いことを示した。また、昆虫類では哺乳類、植物と異なる類似配列の分布であると述べている。

第6章では、本論文の結論と今後の課題が述べられている。

これを要するに、著者は、ヒトのスプライスサイトの配列を他の高等真核生物と比較することにより、スプライシングの機構の解明に役立つと考えられるいくつかの特徴を見出し、生命情報学、応用物理学に貢献するところ大である。よって、著者は北海道大学博士(工学)を授与される資格があるものと認める。