

氏 名 金 麗華

学位（専攻分野） 博士（理学）

学位記番号 総研大甲第 870 号

学位授与の日付 平成 17 年 3 月 24 日

学位授与の要件 生命科学研究科 遺伝学専攻
学位規則第 6 条第 1 項該当

学位論文題目 Evolutionary processes of gene splicing and gene silencing

論文審査員	主査	教授	館野 義男
		教授	西川 建
		教授	城石 俊彦
		教授	菅原 秀明
		教授	岡田 典弘（東京工業大学）

論文内容の要旨

Living things increase their biological diversity by variable evolutionary mechanisms. Among these mechanisms, gene duplication and alternative splicing (A. S.) are the two major evolutionary routes that can bring the functional variation by increasing gene diversification. My research interest is to study about the evolutionary relationship between the two different phenomena by utilizing available all data resources. Results of this study showed that the percentage of A.S. locus in the singleton gene group was less than that in the duplicated gene group and the duplicate genes tended to have more A. S. isoforms than singleton genes. The results suggested that gene duplication would induce more alternative splicing events on the duplicate genes than on singletons possibly by reducing the functional constraint on the duplicates.

process.

The RNA-mediated gene silencing pathways are evolutionarily conserved. RNA interference is a widespread silencing mechanisms. Multicellular eukaryotes produce small RNA molecules (approximately 21-24 nucleotides) of two general types, miRNA and siRNA. They collectively function as sequence-specific guides to silence or regulate genes, transposons, and viruses and to modify chromatin and genome structure. This highlights a fundamental role of short RNAs in eukaryotic gene regulation and antiviral defense. Recently, 3 distinct small RNA directed silencing pathways are observed, such as the destruction of mRNA via siRNA, inhibition of mRNA translation via miRNA, and Epigenetic gene silencing via siRNA. It was also found that in these pathways the members of ribonuclease III family play important role in diverse RNA maturation and decay. Here I investigated the evolution of Rnase III nucleases, Dicer as representative, to further figure out the evolutionary relations of 3 gene silencing pathways. And with the advantage of using genomic sequence as the subject, I also could detect some possible candidates for a particular functional domain or gene in un-annotated genomic region., and on the other hand, it can make more sure the judgement of Non-Existence of domain or gene in some species.

論文の審査結果の要旨

金麗華さんの学位論文の内容は、遺伝子重複と選択スプライシング(alternative splicing, AS)の進化研究ならびに、Rnase III 酵素とマイクロ RNA による遺伝子不活化(gene silencing, GS)の進化研究の 2 つの部分に分かれる。

先ず前半で、金さんは、生物は遺伝子重複と AS により生物学的な多様性を獲得してきたという視点に立って、この 2 つの要因間の進化的な関係を多くの発表されたデータを使用して調べた。この部分ではヒトが研究対象になっている。その結果、AS は単一遺伝子座よりも重複遺伝子座で多く起こることと、AS から生成される isoforms の数は前者よりも後者に多いことを示した。この理由として、彼女は、重複遺伝子のほうが単一遺伝子より機能的な制約が少なく、自然選択圧がより緩やかになったことによる、と論じている。

後半では、マイクロ RNA による GS は真核生物で進化的に保存されてきているという観点で、彼女は、最近明らかになったマイクロ RNA による GS の 3 種の pathways に着目して進化解析を行った。3 種の pathways とは、1) siRNA による mRNA の破壊、2) miRNA による mRNA からの翻訳阻害、そして 3) siRNA による epi-genetic GS である。これら 3 種の pathways には Rnase III 族が共通に重要な役割を演じていることが分かっている。そこで彼女は、Rnase III、とくに dicer に焦点を置いて 3 種の GS pathways の進化的な関係を真核生物と原核生物について調べた。

その結果、まず、Rnase III の進化は種の系統進化に一致することを明らかにした。また、ショウジョウバエと蚊の系統では dicer 遺伝子が重複を起こしており、それぞれが miRNA と siRNA に対応していることが示唆された。つまり、彼女は、siRNA 系と miRNA 系の GS が、線虫と節足動物の分岐後に生じたと論じている。Dicer の中に GS 機能の中心となる PAZ ドメインが存在するが、彼女は、このドメインが、解析の対象となった植物や動物 dicer には存在するが、出芽酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) や原核生物 dicer にはないことを明らかにし、転写後 GS と epi-genetic GS の起源は、出芽酵母の分岐以後、植物—動物の分岐以前に遡ると論じている。もし GS が細胞分化に関与すると考えれば、この議論は妥当であろう。

審査委員全員で金さんの学位論文を審査して、(1) 関連データの収集・選択・精緻化、データ解析そして結論へと、一貫して金さんが主体的に進めてきたこと、(2) データ解析には、創意工夫のあとがみられること、(3) 過去の関連議論に、一石を投じるとともに、今後の選択スプライシングや、miRNA や siRNA による遺伝子発現制御の研究に貢献できる結果を出したこと、(4) 特に、これらの遺伝子発現制御機構が多細胞生物の誕生期に一致する結論を導いたこと、などを評価した。

続いて、金さんの口頭発表とそれに対する質疑応答の結果にもとづいて論文を審査した。多くの質疑があったが、彼女は真摯に応答し、その内容も、論文の研究に関する知識や思考能力を備えていると判断できるものであった。特に、論文の仕事の始めから終わりまで、金さんが主体的に進めてきたことがよく伺われた。審査員からの意見を率直に聴いて応答する態度やその内容からも、研究者として独り立ちできる熱意と能力があると判断できた。金さんは口頭発表を英語で行うとともに、学位論文の内容を、彼女を筆頭著者として国際誌に 2 つ投稿している。従って、英語の能力も総研大の水準を満たすと評価した。

これらを総合判断して、金さんの学位論文を合格とした。