

Title	Identification and characterization of a novel gene family YPEL in a wide spectrum of eukaryotic species.
Sub Title	広範な真核生物にメンバーを有する新規遺伝子ファミリーYPELの発見と性状解析
Author	細野, 克博
Publisher	慶應医学会
Publication year	2005
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.82, No.2 (2005. 6) ,p.19-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20050602-0019

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Identification and characterization of a novel gene family YPEL in a wide spectrum of eukaryotic species.

(広範な真核生物にメンバーを有する新規遺伝子ファミリーYPELの発見と性状解析)

細野 克博

内容の要旨

分子生物学教室は、ヒト染色体として初めて22番染色体の全真正クロマチンのシーケンシングを英米との国際協力で完遂した。申請者は、その後の教室での22番染色体全遺伝子の網羅的同定と構造・機能解析研究に参加し、セントロメアから約6 Mbの位置、22q11.2上PPIL2とMAPK1遺伝子の間に新規遺伝子YPEL1を発見した。本研究ではYPEL1とその関連遺伝子の性状と機能に関して検討した。

YPEL1は昆虫の血球タンパク質関連遺伝子として報告された*Drosophila*のyippee遺伝子に相同性を示すが、yippee、YPEL1ともに機能は未知である。相同性検索の結果、ヒトゲノムにはYPEL1のパラログ遺伝子が他に4コピー(YPEL2~5)存在することが予測されたので、それら全ての全長cDNAをクローニングし、遺伝子構造を決定した。我々はそれらを合わせて新規にYPEL遺伝子ファミリーと提唱した。ヒトYPELファミリーのメンバー間ではアミノ酸配列で43.8~96.6%の相同性を示すことがわかった。また、全メンバーについてマウスでオルソログ遺伝子が存在することがわかったのでcDNAをクローニングし塩基配列を解析したところ、各オルソログ間ではアミノ酸配列で99.2~100%の相同性を示した。既知の全生物ゲノムに対する相同性検索により、YPEL遺伝子ファミリーを探索したところ、68種の動物、植物、真菌類に関して100種類が見出されたが、原核生物、古細菌からは見出されなかった。これら100種類のアミノ酸配列の解析により全メンバーに共通なコンセンサス配列が存在することがわかった。また100種類のYPELファミリータンパク質の系統樹を作成したところ、5つのサブファミリー(動物:2群、植物:2群、真菌:1群)に分類された。YPELファミリーが真核生物に普遍的に存在することは、その機能が生命維持のために極めて重要であることを示唆する。

次に、哺乳類のYPEL1~4タンパク質とYPEL5タンパク質をそれぞれ認識する2種類の特異的抗体(抗YPEL1-4、抗YPEL5)を作成し、COS-7細胞における発現局在を間接蛍光抗体法で解析した。その結果、YPEL1-4タンパク質は間期において中心体と核小体に局在し、分裂期においては複数のドット状構造を形成し、分裂装置の周辺に局在することが判明した。これに対し、YPEL5タンパク質は間期において中心体と核に局在し、分裂期の一時期においては紡錘体上に局在した。これら細胞内局在解析の結果から、YPELタンパク質は中心体や紡錘体と相互作用していると考えられた。このことからYPELファミリータンパク質は細胞分裂に関与する新たな機能を有していることが示唆された。

論文審査の要旨

ヒトゲノムのシーケンシングは完了したが、その成果を疾患原因解明や健康維持の研究にさらなる活用を図るために、塩基配列の意味を読み解き、存在する遺伝子を網羅的に同定することが今後のゲノム研究で重要なことのひとつである。慶大と英米の共同研究で、世界で最初に全シーケンシングを完了した22番染色体に関しても、その「網羅的遺伝子同定」が進められており、本研究はその一環として行われた。申請者は22q11.2から新規遺伝子YPEL1を発見した。さらに、ヒトゲノム上にYPEL1のパラログ遺伝子4コピー(YPEL2~5)も見出し、それらの遺伝子構造も決定した。それらをYPEL遺伝子ファミリーと名付けて、他種生物での同ファミリー遺伝子を探索したところ、動物、植物、真菌類から100種類見出されたが、原核生物、古細菌からは見出されなかった、全種のYPELタンパク質の系統樹を作成したところ、5つのサブファミリー(2群の動物、2群の植物、真菌)を形成した。ヒトYPEL1~4が動物のA群に、YPEL5がB群に分類された。それら2群のサブファミリーを区別できる特異的抗体を作成し、COS-7細胞における発現を間接蛍光抗体法で解析した。YPEL1~4タンパク質は間期において中心体と核小体に局在し、分裂期には複数のドット状構造を形成し、分裂装置の周辺に局在することが判明した。一方、YPEL5タンパク質は間期において中心体と核に局在し、分裂期の一時期においては紡錘体上に局在した。事実上すべての真核生物にYPELファミリー遺伝子が高度に保存されていることから、同ファミリータンパク質が真核生物に共通の重要な生命機能を担っていること、それは細胞分裂関連の現象に関与することが示唆された。

審査に際しては、YPEL遺伝子ファミリーの新規性、YPELファミリータンパク質の局在に関する他の培養細胞も用いた普遍性、今後の機能解析の方針等について質疑がなされた。申請者からは、YPELファミリータンパク質は広範な真核生物で高度に保存された巨大なファミリーを形成しているにもかかわらず、メンバーの解明、包括的な構造解析、機能解析など報告がなく、新規カテゴリーの遺伝子ファミリーであるとの説明があった。また、細胞内局在の普遍性に関しては、COS-7細胞以外の培養細胞として、ヒトHeLa S3細胞で同一の染色像が得られたので、普遍的な結果であると考えていること、HEK293細胞では染色部位が不鮮明で、今後さらに検討を継続する予定である旨の説明がなされた。さらに、機能解析については、細胞内局在解析の結果から新規の細胞分裂関連タンパク質である可能性を追究すること、そのために細胞分裂期における局在のより詳細な解析と、培養細胞でのRNAi法による遺伝子発現抑制を用いた解析を進める方針が表明された。その際、本研究で作成した抗体はYPEL1~4タンパク質の個々を区別できないため、個別のメンバーを認識する抗体を作成する努力も続ける予定であると説明がなされた。最後に、YPEL1~4タンパク質の分裂期の細胞における空間的な局在に関しては共焦点顕微鏡を用いて再確認するとよいつの指摘があった。

以上、本研究はさらに継続して実験を行い検討を加えるべき点が残されているが、遺伝子ファミリーYPELを新たに発見したこと、YPELファミリータンパク質が細胞分裂の新たな機能に関与する可能性を示したという点で有意義な研究であると評価された。

論文審査担当者 主査 分子生物学 清水 信義
微生物学・免疫学 小安 重夫 医化学 末松 誠
先端医科学 河上 裕

学力確認担当者:

審査委員長:小安 重夫

試問日:平成17年 2月17日