

論文審査の要旨及び担当者

報告番号	甲 ㉔ 第	号	氏名	五十嵐 真奈
論文審査担当者	主査	生理学	岡野 栄之	
	薬理学	安井 正人	解剖学	仲嶋 一範
	分子生物学	塩見 春彦		
学力確認担当者	河上 裕		審査委員長	安井 正人
			試問日	平成27年 8月17日
(論文審査の要旨)				
論文題名 : Proposing a new RNA quadruplex structure: j-motif, with possible links to neural development (新規RNA四重鎖構造 j モチーフの構造予測 –神経分化制御との関連–)				
<p>本論文では、神経特異的に発現するRNA結合蛋白質Huと同一の標的mRNAに結合するRNA結合蛋白質hnRNP KのmRNAに対する結合の構造認識機構を<i>in silico</i> の手法を用いて解明することを目的としている。翻訳制御因子であるhnRNP Kとその標的であるp21 mRNAの結合部位の認識機構を<i>in silico</i>で解析し、新規RNA高次構造j-motifを提唱した。さらに新規モチーフ探索ソフトウェアを作成し、データベースの情報からj-motifの<i>in silico</i>スクリーニングを行った。</p> <p>審査では、j-motifは細胞内で高次構造をとることが判明しているかについて問われた。現時点では本論文で示した<i>in silico</i>での化学構造計算での結果のみであると回答された。また、i-motifに関してはNMR法による高次構造の解析が行われていて、計算予測と近似した高次構造をとることがわかっていると回答された。i-motifあるいはj-motifに結合するRNA結合蛋白質は存在するのかと問われた。hnRNP Kがp21 mRNAのほかにも、15-lipoxygenaseという赤血球で発現しているmRNAの3'UTRのi-motifの配列をもつ部分に結合し、その発現を抑制している報告があると回答された。j-motifは3'UTRにしか存在しないのかと問われた。j-motifを持つと予測されたmRNAのうち、62%が3'UTRにj-motifを持つと予測出来ることが申請者が作成した新規モチーフ探索ソフトウェアHIMAJAにより明らかとなったと回答された。さらに、3'UTRにj-motifの存在が多く予測されているがそれは単に3'UTRにピリミジンが沢山ある配列であるからなのではないかと問われた。本論文では3'UTRの特性については考察していなかったため今後そのような観点からも含めた<i>in silico</i>の解析を進めていく旨が回答された。HIMAJAは、今回はRNAのモチーフ探索に用いられたが、他への使用用途はあるのかということと、探索する対象の配列はAUGC以外の文字情報に替えられるのかと問われた。関連論文の結果にあるようにmiRNAのターゲット探索にもHIMAJAは用いられると回答された。また、HIMAJAは汎用的な用途で利用できるように開発されているので、対象の配列は任意の文字列で可能であると回答された。蛋白質のデータベース上での検索はどの位時間がかかるのかと問われた。現段階では探索対象はトランスクリプトームのみであるので、その場合は10分程度で探索が終了することが出来、探索対象となるデータベースは容易に変更可能なため今後検証したいと回答された。実際にi-motifを持つという事が知られている15-lipoxygenase mRNAはHIMAJAの探索で同定されるのかと問われた。HIMAJAは、アルゴリズムと無関係の、正規表現を用いた探索ソフトウェアなので、i-motifのgap部分の指定をうまくすれば、15-lipoxygenase mRNAを探索可能であると回答された。j-motif探索のための条件にgap部分からGを除いたのはなぜかと問われた。hnRNP Kとp21 mRNAの結合を示した3つのゲルシフトアッセイの結果のうち、結合部位の親和性が最も高い2番目の配列に着目するとGAPにGが含まれていなかったため、その条件を用いてj-motifの検索を行ったと回答された。</p> <p>本研究では検討すべき課題を残しているものの、新規RNA高次構造j-motifの存在を新たな手法で提唱した点において非常に有意義な研究であると評価された。</p>				