

はじめに

ヒトゲノム配列の概要版によると、ヒト遺伝子の平均長は 27 kb、うち、イントロンの領域は 25 kb もあり、ヒト遺伝子のほとんどの領域をイントロンが占めています。このように大量のイントロンがどこからやってきて、何のために広がっていったのか、ゲノム機能を理解する上できわめて重要な課題であると考えられます。一方、ヒト遺伝子の総数は 2 万~2.5 万個程度であることが明らかとなり、線虫やショウジョウバエの遺伝子数と大差がないことが分かりました。これは、遺伝子の数でヒトの複雑さを説明することは困難であり、いまだ明らかになっていない情報が、タンパク質をコードする領域以外の場所、つまり遺伝子間やイントロンに隠されている可能性を示しています。近年、選択的スプライシングに注目が集まっていますが、私は、これまでのリボソームタンパク質 (RP) 遺伝子の解析から、むしろイントロンそのものになんらかの重要な機能があり、そのためヒトゲノムには多数のイントロンが入り込んだのではないかと考えています。

この仮説を検証するために、本研究では (1) リボソームタンパク質 (RP) 遺伝子データベースの構築、(2) 核小体低分子 RNA (snoRNA) データベースの構築、(3) 進化の過程におけるイントロンの獲得・欠失頻度の推定、(4) ミトコンドリアと細胞質の RP 遺伝子の比較、(5) ゼブラフィッシュを用いたイントロンの解析、を行いました。これらの作業を通じて、イントロンの起源は真核生物の誕生以降であり、イントロンの獲得と欠失がこれら生物の種分化に (恐らくイントロン内にコードされた機能性 RNA を介して) 深く関わっている可能性があることを明らかにできました (研究発表を参照)。

イントロンの起源については、イントロン先行説 (真核生物が誕生する以前から存在) と後行説 (真核生物になってから生じた) をめぐって過去20年以上にも渡る激しい論争が続いています。本研究の成果は、イントロン後行説を強く支持しております。ゲノムは進化の過程で新たな機能を獲得するためにイントロンを利用したのでは...? イントロンに関する興味はますます尽きません。基礎的ではありますがきわめて重要なこの課題に対して、今後も皆様のご支援をお願いいたします。

最後に、本研究を遂行するにあたりご協力いただいた、博士研究員の吉浜麻生、上地珠代、比嘉三代美、グエン・ディン・ホン各氏に感謝いたします。また、経理等の面でたいへんお世話になった、白谷由紀子氏に厚くお礼申し上げます。

研 究 組 織

研究代表者

剣 持 直 哉 宮崎大学フロンティア科学実験総合センター 助教授

交 付 決 定 額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合 計
平成 15 年度	6,400,000	0	6,400,000
平成 16 年度	4,600,000	0	4,600,000
平成 17 年度	4,600,000	0	4,600,000
総 計	15,600,000	0	15,600,000

研究発表

(1) 学会誌等

1. Nakao, A., Yoshihama, M. and Kenmochi, N. (2004) RPG: the Ribosomal Protein Gene database. *Nucleic Acids Res.* **32**, D168-D170.
2. Nguyen HD, Yoshihama M, Kenmochi N. (2005) New maximum likelihood estimators for eukaryotic intron evolution. *PLoS Comput. Biol.* **1**, e79.
3. Maeda, N., Toku, S., Kenmochi, N. and Tanaka, T. (2006) A novel nucleolar protein interacts with ribosomal protein S19. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **339**, 41-46.
4. Ishii, K., Washio, T., Uechi, T., Yoshihama, M., Kenmochi, N. and Tomita, M. (2006) Characteristics and clustering of human ribosomal protein genes. *BMC Genomics.* **7**, 37.
5. Yoshihama, M., Nakao, A., Nguyen, HD. and Kenmochi, N. (2006) Analysis of ribosomal protein gene structures: implications for intron evolution. *PLoS Genet.* **2**, e25.

(2) 口頭発表

ワークショップの主催

1. 坂本博、谷時雄、剣持直哉 (2004)
RNA-protein complex: 超分子システムの機能発現に迫る. 第 27 回日本分子生物学会年会(神戸) Abst. 341-343

学会発表

1. Kenmochi, N., Yoshihama, M., Uechi, T. and Nakao, A. (2003)
The ribosomal protein genes: Comparison of gene structures and evolution of introns. 68th Cold Spring Harbor Symposium on "The Genome of *Homo sapiens*" (Cold Spring Harbor, New York) Abst. 85
2. Sagara, J., Nakamura, S., Kenmochi, N., and Asai, K. (2003)
Prediction of snoRNAs in human genome. International Conference on "Intelligent Systems for Molecular Biology" (Brisbane, Australia) Abst. H-31
3. 中尾彰宏, 剣持直哉 (2003)

- リボソームタンパク質遺伝子データベース(RPG)の構築. 第 27 回九州シンポジウム(宮崎) Abst. 39
4. 吉浜麻生, 剣持直哉 (2003)
イントロンの起源と進化:リボソームタンパク質遺伝子を用いた解析. 第 27 回九州シンポジウム(宮崎) Abst. 49
 5. 吉浜麻生, 剣持直哉 (2003)
リボソームタンパク質遺伝子を用いた GU-AG イントロンの進化の解析. 第 5 回日本進化学会(福岡) Abst. 128
 6. Kenmochi, N., Yoshihama, M., Uechi, T. and Nakao, A. (2003)
Comparative analysis of ribosomal protein genes and evolution of introns. International Symposium on " New Horizons in Molecular Sciences and Systems: An Integrated Approach " (Okinawa) Abst. 125
 7. Kenmochi, N., Yoshihama, M., Uechi, T. and Nakao, A. (2003)
Comparative analysis of ribosomal protein genes and evolution of introns. Annual Meeting of American Society of Human Genetics (Los Angeles) Am.J. Hum. Genet. 73 (5), 429
 8. Kenmochi, N., Nakao, A. and Yoshihama, M. (2003)
Construction of the Ribosomal Protein Gene (RPG) database. International Symposium on "The New Frontier of RNA Science" (Kyoto) Abst. 52
 9. Yoshihama, M., Nakao, A., Kodama, J. and Kenmochi, N. (2003)
Evolution of GU-AG introns: Large-scale comparison of ribosomal protein genes. International Symposium on "The New Frontier of RNA Science" (Kyoto) Abst. 53
 10. Uechi, T., Hashimoto, Y., Inoue, K. and Kenmochi, N. (2003)
Ribosomal protein gene knockdown using the antisense oligos in zebrafish. International Symposium on "The New Frontier of RNA Science" (Kyoto) Abst. 141
 11. 石井 強太, 柳澤 直宏, 鷺尾 尊規, 上地 珠代, 吉浜 麻生, 中尾彰宏, 剣持 直哉, 富田 勝 (2003)
ヒトリボソームタンパク質遺伝子の転写・翻訳機構に関する大規模解析. 第 26 回日本分子生物学会年会(神戸) Abst. 549
 12. 上地珠代, 橋本祥子, 井上邦夫, 剣持直哉 (2003)
ゼブラフィッシュにおけるリボソームタンパク質遺伝子の発現抑制. 第 26 回日本分子生物学会年会(神戸) Abst. 624
 13. 吉浜麻生, 中尾彰宏, 児玉 隼一, 剣持直哉 (2003)

リボソームタンパク質遺伝子からイントロンの進化を探る. 第 26 回日本分子生物学会年会(神戸) Abst. 815

14. Kenmochi, N., Nakao, A. and Yoshihama, M. (2004)
Construction of the ribosomal protein gene (RPG) database: A tool for comparative studies of gene evolution. Cold Spring Harbor meeting on “ The Biology of the Genome ” (Cold Spring Harbor, New York) Abst. 136
15. 比嘉三代美, 前田紀子, 田中龍夫, 剣持直哉 (2004)
修飾ヌクレオチドの解析から新規 snoRNA 遺伝子探索へ. 第 6 回日本 RNA 学会年会(熊本) Abst. 68
16. 中尾彰宏, 吉浜麻生, 比嘉三代美, 剣持直哉 (2004)
修飾ヌクレオチドの解析から新規 snoRNA 遺伝子探索へ. 第 6 回日本 RNA 学会年会(熊本) Abst. 103
17. 相良純一, 金大真, 剣持直哉, 浅井潔 (2004)
ヒトゲノム中の snoRNA 部位予測. 第 6 回日本 RNA 学会年会(熊本) Abst. 111
18. 上地珠代, 三嶋雄一郎, 井上邦夫, 剣持直哉 (2004)
ゼブラフィッシュにおけるリボソーム変異モデルの作製. 第 6 回日本 RNA 学会年会(熊本) Abst. 136
19. 吉浜麻生, 比嘉三代美, 中尾彰宏, 剣持直哉 (2004)
snoRNA 遺伝子の位置の比較と進化的考察. 第 6 回日本 RNA 学会年会(熊本) Abst. 150
20. Kenmochi, N., Yoshihama, M. and Nakao, A. (2004)
Ribosomal protein gene database (RPG): A tool for comparative studies of gene evolution. 5th HUGO Pacific Meeting and 6th Asia-Pacific Conference in Human Genetics on “ Genomic Medicine and Population Health ” (Singapore) Abst. 97
21. 鷺尾 尊規, 石井 強太, 上地 珠代, 吉浜 麻生, 剣持 直哉, 富田 勝 (2004)
ヒトリボソームタンパク質遺伝子の類似性と多様性に関する網羅的解析. 第 27 回日本分子生物学会年会(神戸) Abst. 341
22. 前田紀子, 徳誠吉, 剣持直哉, 田中龍夫 (2004)
リボソームタンパク質 S19 と結合する新規核小体タンパク質. 第 27 回日本分子生物学会年会(神戸) Abst. 456
23. 石井 強太, 鷺尾 尊規, 上地 珠代, 吉浜 麻生, 剣持 直哉, 富田 勝 (2004)
ヒトリボソームタンパク質遺伝子の網羅的解析. 第 27 回日本分子生物学会年会(神戸) Abst. 768

24. 吉浜麻生、比嘉三代美、中尾彰宏、児玉隼一、中島早苗、清松誠、剣持直哉 (2004)
リボソームタンパク質遺伝子をツールとしたイントロンの進化の解析. 第27回日本分子生物学会年会(神戸) Abst. 843
25. 比嘉三代美, 吉浜麻生, 剣持直哉 (2004)
snoRNA 遺伝子の網羅的解析～イントロンへの移動機構解明へ向けて. 第27回日本分子生物学会年会(神戸) Abst. 843
26. Kenmochi, N., Nakao, A., Nguyen, H.D. and Yoshihama, M. (2005)
Construction of ribosomal protein gene database and comparative analysis of intron evolution. HUGO's 10th Human Genome Meeting (Kyoto) Abst. 102
27. Kenmochi, N., Nakao, A., Nguyen, H.D. and Yoshihama, M. (2005)
Construction of ribosomal protein gene database and comparative analysis of intron evolution. The 10th Annual Meeting of the RNA Society (Banff, Canada) Abst. 570
28. 上地珠代, 中島由香里, 三嶋雄一郎, 井上邦夫, 剣持直哉 (2005)
ゼブラフィッシュを用いたリボソームタンパク質の機能解析. 第7回日本 RNA 学会年会(弘前) Abst.
29. 吉浜麻生, 中尾彰宏, グエン・ディン・ホン, 剣持直哉 (2005)
スプライセオソーム型イントロンの出現時期の決定:リボソームタンパク質遺伝子を用いた解析. 第7回日本 RNA 学会年会(弘前) Abst.
30. 剣持直哉 (2005)
ゼブラフィッシュを用いた snoRNP の機能解析. 第4回新しい **RNA/RNP** を見つける会(鶴岡)
31. 剣持直哉 (2005)
リボソームの異常と疾患. 第29回蛋白質と酵素の構造と機能に関する九州シンポジウム(宗像、福岡) Abst. 12
32. 吉浜麻生, 中尾彰宏, グエン・ディン・ホン, 剣持直哉 (2005)
スプライセオソーム型イントロンの出現時期と拡散機構の推定:リボソームタンパク質遺伝子を用いた解析. 第28回日本分子生物学会年会(福岡) Abst. 365
33. Nguyen, H.D., Yoshihama, M. and Kenmochi, N. (2005)
Inference of evolution of spliceosomal introns: the maximum likelihood approach. 第28回日本分子生物学会年会(福岡) Abst. 365
34. 比嘉三代美, 上地珠代, 中村魅加子, 中島由香里, 剣持直哉 (2005)

ゼブラフィッシュにおける snoRNP ノックダウンモデルの開発. 第 28 回日本分子生物学会年会(福岡) Abst. 461

35. 中尾彰宏, 比嘉三代美, 吉浜麻生, 剣持直哉 (2005)
snoRNA データベース'snoOPY'の構築:機能性 RNA 研究の基盤として. 第 28 回日本分子生物学会年会(福岡) Abst. 475
36. 上地珠代, 中島由香里, 三嶋雄一郎, 井上邦夫, 剣持直哉 (2005)
リボソームの異常と疾患～ゼブラフィッシュを用いた解析. 第 28 回日本分子生物学会年会(福岡) Abst. 716
37. Nguyen, H.D., Yoshihama, M. and Kenmochi, N. (2005)
A maximum likelihood method for inference of spliceosomal intron evolution. The 6th International Conference on 'Genome Informatics' (Yokohama) Abst. P063

(3) 出 版 物

著 書

1. Kenmochi, N. (2003) Ribosomes and Ribosomal Proteins. In: Cooper, D.N. (ed.) Nature Encyclopedia of the Human Genome, vol. 5, pp. 77-82. London: Nature Publishing Group.
2. 剣持直哉 (2006) ゲノム情報に基づく snoRNA の解析—ゼブラフィッシュを用いたアプローチ. 機能性 Non-coding RNA (河合剛太, 金井昭夫編), pp. 83-98, クバプロ, 東京

総 説

1. 剣持直哉 (2003) リボソーム病:新たな疾患としての可能性を探る. 蛋白質 酸 酵素, **48**, 508-516.
2. 剣持直哉 (2004) リボソームと疾患. 実験医学, **22**, 200-205.