



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

哺乳類Ten-eleven translocation protein (TET)
遺伝子ファミリーの分子進化に関する研究

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2017-08-10 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 赤堀, 洋道 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/56205

氏名（本籍）	赤堀 洋道（岐阜県）
学位の種類	博士（医科学）
学位授与番号	甲第 39 号
学位授与日付	平成 29 年 3 月 25 日
専攻	医療情報学専攻
学位論文題目	哺乳類 Ten-eleven translocation protein (TET) 遺伝子ファミリーの 分子進化に関する研究 (Molecular evolution of the Ten-eleven translocation protein (TET) gene family in mammals)
学位論文審査委員	(主査) 教授 加藤 善一郎 (副査) 教授 上田 浩 (副査) 教授 武藤 吉徳

論文内容の要旨

背景： DNA シトシン塩基のメチル化は、転写を制御するエピジェネティックな標識となり、多様な細胞現象において重要な役割を果たすことが知られている。TET (Ten-eleven translocation protein) 遺伝子がコードするタンパク質は、DNA 脱メチル化に関与すると考えられている 2 価鉄と 2 オキシグルタル酸依存性のジオキシングナーゼである。TET 遺伝子の名称の由来となる 10-11 転座は、急性骨髄性白血病やリンパ球性白血病患者の染色体で観察されている。哺乳類では、TET1、TET2、TET3 の 3 つのパラログが同定され、それぞれがカルボキシル末端側に触媒コアドメインを有し、異なった組織特異的発現パターンを示す。これら TET 遺伝子は遺伝子重複と適応進化とが原因で機能的に多様化したものと推測されるが、その分子進化過程の詳細は全く解析されていない。そこで、本研究では TET 遺伝子ファミリーの分子進化的特性を明らかにするために、遺伝子レベルでの正の選択と、その選択圧にさらされるコドンサイトについて詳細に解析した。

結果： 解析に用いた哺乳類 TET 遺伝子配列は、ヒト TET 遺伝子 (TET1, TET2, TET3) 配列や遺伝子名を検索シードとして、GenBank、Ensembl 等のデータベースから収集・選別した。得られた 130 種の配列の不十分な整列領域を削除することによって、最終的な多重アラインメント配列を生成した。この多重アラインメント配列を用いて、TET 遺伝子の系統樹を作成し、それらをもとに、PAML、Datamonky server、Fitmodel などのプログラムを使用して、正の選択が働いたサイトを検出した。また、TET2 では PyMOL プログラムを用いて、その触媒領域の 3 次元構造上へ、検出されたサイトのマッピングを行った。正の選択は、dN（非同義塩基置換速度）と dS（同義塩基置換速度）から推定される ω (dN/dS) により判定し、 ω の値が 1 よりも十分大きい時に正の選択を受けたとした。

TET1、TET2、TET3 について PAML 解析を行うと、全てのコドンサイトで単一の ω を仮定する M0 置換モデルにおいては、各 TET 遺伝子いずれも ω の値が 1 よりも十分に小さく (TET1=0.385, TET2=0.346, TET3=0.115)、全体としては負の選択のもとに進化したことが推定された。次に、複数モデルを用いた Datamonky server での詳細な解析を行うと、各 TET 遺伝子で正の選択を受けたサイトとして、それぞれ、

34 (TET1)、29 (TET2)、13 (TET3) 箇所が推定された。また、Fitmodel 解析では、3つの異なる ω の値をサイトごとに不均等にスイッチする M3+S2 モデルにおいて、最大値となる ω_3 の値は、1.34 (TET1)、1.54 (TET2)、1.07 (TET3) で、それぞれ 298、128、77 箇所のコドンサイトが該当した。こうした結果は、TET1 および TET2 遺伝子が TET3 遺伝子よりも頻繁に正の選択を受けてきたことを示している。したがって、哺乳類の進化過程では、TET1 と TET2 遺伝子が急速に進化し機能分化を進めてきたことが推定される。一方、TET 遺伝子の領域別に正の選択を受けたコドンサイトを調べると、酵素の触媒コアドメインにおける正の選択は著しく少なかった。僅かに見いだされた5つの正の選択を受けたアミノ酸を TET2 の立体構造上にマッピングすると、全てがタンパク質の表面に位置した。このことは、これらのアミノ酸が他のタンパク質との相互作用の制御に関連して進化してきたことを示唆している。

総括： 本研究では、哺乳類の広範な TET 遺伝子ファミリーメンバーを同定するとともに、遺伝子塩基配列の解析によって、TET1、TET2、TET3 各パラログ間の分子進化学的特性を明らかにした。これらの遺伝子で働く優位な選択圧は負の選択であったが、特定のコドンサイトでは機能的分化および適応進化の兆候を示す正の選択を確認した。TET3 遺伝子に比べ、TET1 および TET2 遺伝子では頻繁に正の選択が働いたことを明らかにしたが、このことはまた、TET3 が著しく保存されている遺伝子であることを示している。他方、TET2 触媒コアドメインでは、5つの正の選択を受けたアミノ酸がタンパク質表面に見いだされたが、これらのアミノ酸が酵素の触媒特性を変化させている可能性もある。今後、こうした分子進化解析の結果に基づいて実験検証を含めた研究をさらに進めることにより、TET 遺伝子ファミリーのより詳細な分子機能の解明が期待できる。

論文審査結果の要旨

本論文は、エピジェネティックス制御に重要な役割を果たす TET (Ten-eleven translocation protein) 遺伝子ファミリーの分子進化学的特性を解析し、遺伝子レベルでの自然選択の特徴と意義について明らかにした成果をまとめたものである。

DNA シトシン塩基のメチル化は、転写を制御するエピジェネティックな標識となり、多様な細胞現象において重要な役割を果たすことが知られている。TET 遺伝子がコードするタンパク質は、DNA 脱メチル化に関与すると考えられている2価鉄と2オキシグルタル酸依存性のジオキシゲナーゼである。TET 遺伝子の名称の由来となる 10-11 転座は、急性骨髄性白血病やリンパ球性白血病患者の染色体で観察されている。哺乳類では、TET1、TET2、TET3 の3つのパラログが同定され、それぞれがカルボキシル末端側に触媒コアドメインを有し、異なった組織特異的発現パターンを示す。これら TET 遺伝子は遺伝子重複と適応進化とが原因で機能的に多様化したものと推測されるが、その分子進化過程の詳細は全く解析されていない。

本研究で申請者は、遺伝子レベルの自然選択を検出する各種最尤法プログラムを用いて、TET 遺伝子ファミリーについて正の選択を受けたコドンサイトの検出を行った。最初に行った PAML プログラムによる解析では、全てのコドンサイトで単一の ω を仮定する M0 置換モデルについて検討された。このモデルによる推定では、各 TET 遺伝子いずれも ω の値が1よりも小さく、遺伝子全体としては負の選択のもとに進化したことが推定された。次に、PAML を含めた複数のサイトモデルを用いた詳細な解析により、各 TET 遺伝子で正の選択を受けたコドンサイトとして、それぞれ、34 (TET1)、29 (TET2)、13 (TET3) 箇所が推定された。また、Fitmodel 解析では、3つの異なる ω の値をサイトご

とに不均等にスイッチする M3+S2 モデルにおいて、最大値となる ω_3 の値は、1.34(TET1)、1.54(TET2)、1.07(TET3) で、それぞれ 298、128、77 箇所のコドンサイトが該当した。こうした結果から、TET1 および TET2 遺伝子が TET3 遺伝子よりも頻繁に正の選択を受けてきたことが示された。したがって、哺乳類の進化過程では、TET1 と TET2 遺伝子が急速に進化し機能分化を進めてきたことが明らかとなった。

一方、申請者は TET 遺伝子の領域別に正の選択を受けたコドンサイトを調べ、酵素の触媒コアドメインにおける正の選択は著しく少ないことを示した。さらに、触媒領域に僅かに見いだされた 5 つの正の選択を受けたアミノ酸を TET2 の立体構造上にマッピングすることにより、全てがタンパク質の表面に位置することを明らかにした。このことから、これらのアミノ酸が他のタンパク質との相互作用の制御に関連して進化してきた可能性が示唆された。

TET 遺伝子は、その発見当初から発癌との関連が注目されている遺伝子である。これに加え、エピジェネティクス制御を介して ES 細胞の多能性の維持や初期発生の制御に関与していることが明らかにされつつある。したがって、申請者が明らかにした TET 遺伝子の分子進化学的知見は、発癌のメカニズムや ES 細胞の分化制御の解明及びそれらに関わる創薬に大いに貢献すると期待できる。こうした観点から、申請者赤堀洋道の論文は学術的価値が極めて高く、審査の結果、学位論文に値するものと判定した。

最終試験結果の要旨

赤堀氏の学位論文の主要部分は審査付き学術雑誌に公表済みの一編の論文に基づくものであり、本論文が学位論文として完成された内容であることを確認した。

また、公聴会において、学位論文の内容に関する事項、すなわち、遺伝子の分子進化と自然選択の概念、正の選択の検出技法、TET 遺伝子ファミリーの生物学的機能、研究成果の医療や創薬との関連、さらには今後の研究の展開や将来性などについて諮問を行った。申請者からは十分な内容の回答が得られたので、博士（医科学）の学位に適するものと判断し、最終試験に合格したと判定した。

論文リスト

1. Hiromichi Akahori, Stéphane Guindon, Sumio Yoshizaki, Yoshinori Muto. “Molecular Evolution of the TET Gene Family in Mammals.” *International Journal of Molecular Sciences*. **16**:28472-28485, 2015. 【Impact Factor: 3.257】