

氏 名	谷 口 一 郎
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学位記番号	理 博 第 3215 号
学位授与の日付	平 成 20 年 1 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	理 学 研 究 科 生 物 学 専 攻
学位論文題目	RNAの核外輸送と核内繫留の連係による適正な遺伝子発現機構の研究

論文調査委員 (主査) 教授 大野 陸 人 教授 阿形 清 和 教授 七田 芳 則

論 文 内 容 の 要 旨

真核細胞では、mRNAは、特異的なRNA-タンパク質複合体として、核から細胞質へと輸送される。そのような輸送複合体の形成過程は、REF/ALY（以下、REF）などの特異的なRNA結合タンパク質がmRNA上にまずリクルートされ、次いでそれらがアダプター分子として、主要なmRNA輸送受容体TAP-p15をmRNA上にリクルートするという2つのステップに分けられる。この最初のアダプター分子のmRNA上へのリクルートは、スプライシング反応により促進されることが明らかになっているのに対し、元々イントロンを含まない遺伝子から産生されるmRNA（intronless mRNA）上へは、どのようにしてREF、そしてTAP-p15がリクルートされるのかについては明らかとなっていない。そこで本研究の第一部では、そのようなintronless mRNA上へのmRNA核外輸送因子群のリクルート機構を明らかにすることを目指して、試験管内のREFリクルート系とアフリカツメガエル卵母細胞への顕微注入系を組み合わせた解析を行った。試験管内の系からは、mRNAのスプライシングや核外輸送に関与することが既にわかっていたRNAヘリカーゼであるUAP56が、このREFのmRNAへの結合をATP依存的に促進すること、その際にUAP56はRNAヘリカーゼとしてよりはむしろREFをRNA上へとエスコートする分子シャペロンとして機能することなどが示唆された。さらに、アフリカツメガエル卵母細胞への顕微注入実験から、UAP56とそのATP結合活性がmRNAの核外輸送に重要であることが明らかになった。以上の結果をもとに、intronless mRNA上へのATP依存的なmRNA輸送因子群のリクルート機構のモデルを提唱した。

以上のような、mRNAを核から細胞質へ輸送させる遺伝子発現のための機構と対照的に、イントロンを持つmRNA（mRNA前駆体）をスプライシングが完了するまで核内に繫留するというRNAの品質管理機構も真核細胞は備えている。mRNA前駆体の核内繫留はイントロンを認識する因子群によって担われていると考えられており、イントロン内のスプライシングのための信号配列がコンセンサスからずれていると、そのmRNA前駆体は細胞質に漏出するおそれがある。そのような“弱い”イントロンを持つmRNA前駆体はしばしば、プリン塩基に富んだエキソン内スプライシング促進配列（exonic splicing enhancer, ESE）を持っている。本研究の第二部において、ESEがスプライシングを促進するだけでなく、mRNA前駆体の核内繫留に寄与していることを明らかにした。ESEを人工的に付加したさまざまなRNAをアフリカツメガエル卵母細胞の核内に顕微注入する実験から、ESEはさまざまなRNAを核内に繫留し、核外輸送を阻害する活性を持つこと、さらに、ESEの核内繫留は、ESEを持たない通常のmRNA前駆体の核内繫留と共通の機構によって行われることなどが明らかになった。さらに興味深いことに、ESEの核内繫留活性は、RNAがスプライシングを経ると解除されることがわかった。つまり、スプライシング反応にはESEによる核内繫留効果をリセットし、スプライシングを受けたRNAを効率よく核外へ輸送させる機能があるということである。以上の結果をもとに、ESEの遺伝子発現とRNA品質管理機構における新たな役割についてのモデルを提唱した。

最後に、これまでの知見と本研究で得られた成果をもとに、RNAの核外輸送と核内繫留の連係による適正な遺伝子発現の分子機構について総括的な考察を行った。

論文審査の結果の要旨

真核細胞では、RNAは核内で合成されるが、細胞質に輸送すべきRNAと核内に留めるべきRNAを正確に識別することにより、適正な遺伝子発現を達成している。例えば、イントロンを持つmRNA（mRNA前駆体）はスプライシングが完了するまで核内に繫留されるのに対し、成熟したmRNAは細胞質へと輸送される。本申請論文は2部構成になっていて、その第1部では、mRNAの細胞質への輸送機構を、第2部ではmRNA前駆体の核内繫留機構を研究している。

高等真核生物の多くの遺伝子はイントロンを持っており、そのような遺伝子から産生されるmRNAの核外輸送機構は比較的良く研究されている。しかし、元々イントロンを持たないような遺伝子から産生されるmRNA（intronless mRNA）の核外輸送機構はほとんど明らかになっていない。本研究の第1部では、申請者は、intronless mRNA上へどのようにしてmRNA核外輸送因子REFがリクルートされるのかについて明らかにするため、試験管内の生化学系とアフリカツメガエル卵母細胞への顕微注入系を組み合わせた解析を行った。その結果、RNAヘリカーゼであるUAP56が、REFのmRNAへのリクルートをATP依存的に行うこと、その際にUAP56はRNAヘリカーゼとしてよりはむしろREFをRNA上へとエスコートする分子シャペロンとして機能することなどが示唆された。申請者は、以上の結果をもとに、intronless mRNA上へのATP依存的なmRNA輸送因子群のリクルート機構のモデルを提唱した。これら一連の結果は、mRNA輸送因子群のRNA上へのリクルート機構に新たな洞察を与えるものと評価される。

一方、mRNA前駆体の核内繫留はイントロンを認識する因子群によって担われていると考えられており、“弱い”イントロンを持つmRNA前駆体は細胞質に漏出するおそれがある。そのようなmRNA前駆体はしばしば、エキソン内スプライシング促進配列（exonic splicing enhancer, ESE）を持っている。本研究の第2部では、申請者は、ESEがスプライシングを促進するだけでなく、mRNA前駆体の核内繫留に寄与していることを明らかにした。さらに、ESEによる核内係留効果は、スプライシングが完了することによりリセットされ、核内係留効果が解除される事も分かった。このような“核内係留とその解除”という巧妙な仕組みにより、“弱い”イントロンを持つRNA前駆体から作られたmRNAは、ESEを持っていても細胞質へと輸送されるわけである。以上の結果をもとに、申請者は、ESEの遺伝子発現とRNA品質管理機構における新たな役割についてのモデルを提唱した。これらの結果は、細胞の持つRNAの品質管理機構の新しい一端を明らかにすることができたものと高く評価される。

以上のように、本研究によりRNAの核外輸送と核内繫留の連係による適正な遺伝子発現機構の重要な局面が明らかになり、この分野の発展に寄与したことは高く評価される。よって、本論文は博士（理学）の学位論文として価値あるものを認める。また、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。