

氏名	く ぼ とも ひろ 久 保 知 大
学位(専攻分野)	博 士 (生命科学)
学位記番号	生 博 第 121 号
学位授与の日付	平 成 19 年 3 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	生 命 科 学 研 究 科 高 次 生 命 科 学 専 攻
学位論文題目	Cleavage Factor Im によるポリ A 付加サイト選択に関する研究

論文調査委員 (主 査)
教授 清水 章 教授 眞貝 洋一 教授 松本 智裕

論 文 内 容 の 要 旨

高等真核生物では、1つの遺伝子から多様な種類の mRNA が産生される。このような遺伝子発現の多様性は、選択的スプライシングや選択的ポリアダニル化 (alternative polyadenylation) により生み出されることが知られている。選択的ポリアダニル化は、1つの pre-mRNA に複数のポリ A 付加サイトが存在する場合、それらサイトの選択により最終的に異なった構造をもつ成熟 mRNA を産生する現象で、組織特異的あるいは発生の時期特異的に起こることが多い。選択的ポリアダニル化により、翻訳されるタンパクの一次構造が変化する場合や成熟 mRNA の 3'UTR だけが変化する場合などがあるが、特に、3'UTR を変化させるような選択的ポリアダニル化に関してはその分子基盤は全く不明であった。

本論文では pre-mRNA の切断反応に関わる因子として知られていた Cleavage Factor Im 複合体 (CFIm) の細胞内機能を解析した。その結果、CFIm が 3'UTR 内でのポリ A 付加サイトの選択に寄与していることを明らかにした。

ヒト HeLa 細胞において、CFIm 複合体の 25-kDa サブユニット (CFIm25) を RNA 干渉法によりノックダウンした。3'UTR 内での選択的ポリアダニル化が起こることが知られているいくつかの遺伝子の mRNA におけるポリ A 付加サイトの選択が CFIm25 のノックダウンによってどのような影響を受けるかについて、ノックダウン細胞由来の polyA⁺RNA をノーザンブロット法および 3' RACE PCR 法により解析した。その結果、CFIm25 ノックダウンにより 3'UTR 内でのポリ A 付加サイトの選択が劇的に変化する事が明らかとなった。興味深いことに、CFIm ノックダウンによる 3'UTR 内でのポリ A 付加サイトの選択では、上流側に存在するサイトが特異的に使用されることが示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

高等真核生物では、1つの遺伝子から多様な種類の mRNA が産生される。このような遺伝子発現の多様性は、選択的スプライシングや選択的ポリアダニル化 (alternative polyadenylation) により生み出されることが知られている。選択的ポリアダニル化は、1つの pre-mRNA に複数のポリ A 付加サイトが存在する場合、それらサイトの選択により最終的に異なった構造をもつ成熟 mRNA を産生する現象で、組織特異的あるいは発生の時期特異的に起こることが多い。選択的ポリアダニル化により、翻訳されるタンパクの一次構造が変化する場合や成熟 mRNA の 3'UTR だけが変化する場合などがあるが、特に、3'UTR を変化させるような選択的ポリアダニル化に関してはその分子基盤は全く不明であった。

本論文は、pre-mRNA の切断反応に関わる因子として知られていた Cleavage Factor Im 複合体 (CFIm) の細胞内機能を解析し、CFIm が 3'UTR 内におけるポリ A 付加サイトの選択 (選択的ポリアダニル化) に寄与していることを明らかにしたものである。

ヒト HeLa 細胞において、CFIm 複合体の 25-kDa サブユニット (CFIm25) を RNA 干渉法によりノックダウンし、3'UTR 内での選択的ポリアダニル化が起こることが知られているいくつかの遺伝子の mRNA がどのような影響を受けるか、ノックダウン細胞由来の polyA⁺RNA をノーザンブロット法および 3'RACEPCR 法により解析した。その結果、

CFIm25 ノックダウンにより 3'UTR 内でのポリ A 付加サイトの選択が劇的に変化することが明らかとなった。

近年, 3'UTR には mRNA の安定性や局在などを制御する配列が存在することや microRNA が mRNA の 3'UTR をターゲットに翻訳効率を制御することなどが明らかになりつつある。今後, 選択的ポリアダニル化による 3'UTR それ自体の調節がどのような意義をもつのか興味深い。

以上の結果は, 3'UTR 内でのポリ A 付加サイトの選択に初めて分子基盤を与えた研究結果であり, 遺伝子発現の制御機構の新たな分野を構築できる可能性があると考えられる。

従って, 本論文は博士(生命科学)の学位論文として価値あるものであると認めた。本学位申請者は, 平成19年1月24日に実施された論文内容とそれに関連した口頭試問を受け合格と認められた。