

(続紙 1)

京都大学	博士 (生命科学)	氏名	藤田 賢一
論文題目	DEAD box 型 RNA ヘリカーゼ UAP56 と URH49 による複合体リモデリングを介した mRNA 輸送機構に関する研究		
(論文内容の要旨)			
<p>真核生物の遺伝子発現において、タンパク質をコードする遺伝子は pre-mRNA として転写され、各プロセッシングを受けて成熟 mRNA となった後に、mRNA 核外輸送因子によって細胞質に輸送される。mRNA プロセッシングと核外輸送を共役する因子として TREX 複合体が知られており、その構成因子として DEAD box 型 RNA ヘリカーゼ UAP56 がある。ヒトにおいては、UAP56 のパラログとして URH49 も存在しているが、URH49 は AREX 複合体を形成して、TREX 複合体とは異なる mRNA 群の選択的輸送経路を形成する。mRNA のプロセッシング過程において、UAP56 は ATP 依存的な複合体のリモデリングを介して最終的に mRNA 輸送体 NXF1 と結合し、これにより mRNA 核外輸送が達成される。しかし、URH49 の AREX 複合体を介した mRNA 核外輸送に関する詳細なメカニズムは未解明であった。</p> <p>本研究は、UAP56 と URH49 の複合体形成様式と選択的 mRNA 輸送の分子機構を明らかにすることを目的とした。UAP56 と URH49 の免疫沈降実験から、ATP 非存在下では UAP56 は THO 複合体と apo 型複合体を、URH49 は CIP29 との apo 型複合体を形成していることが示唆され、それぞれを apo-TREX 複合体ならびに apo-AREX 複合体と定義した。これらの apo 型複合体は ATP 添加によって THO 複合体、ALYREF、および CIP29 を含む ATP 結合型複合体へとリモデリングし、それらの構成因子は UAP56 と URH49 をのぞいて共通であったことから、この ATP 結合型複合体を ATP-TREX 複合体と定義した。次いで、これらの複合体形成と mRNA 輸送機能について解析を進めた。これまでの解析から、URH49 をノックダウンすると細胞質分裂異常の表現型が低頻度に観察されることが HeLa 細胞で報告されていたが、MCF7 細胞を使用したところ HeLa 細胞に比べて同様の表現型が高頻度に観察された。このアッセイ系を使用して解析を行ったところ、CIP29 が URH49 の選択的 mRNA 輸送経路に寄与すること、加えて URH49 の mRNA 輸送に ATP 結合が必須であることが明らかとなった。これらの結果は apo 型複合体の差異が、UAP56 と URH49 の選択的 mRNA 輸送に関与することを示唆していた。最後に、NXF1 のノックダウンにより、UAP56 の mRNA 輸送経路だけでなく、URH49 の mRNA 輸送経路においても異常が生じることを見出した。また NXF1 および ALYREF が、UAP56 と URH49 両方の標的 mRNA 群とゲノムワイドに結合することを見出し、両 mRNA 輸送経路における複合体リモデリングと、NXF1 の寄与の一般性を示した。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

真核生物において遺伝情報は核に収納され、タンパク質の翻訳の場である細胞質とは隔離されている。ヒトなどの高等真核生物において転写から翻訳へのプロセスは高度に制御されており、プロセッシングを終了したmRNAが細胞質へと輸送される分子機構を解明することは遺伝子発現を理解する上で重要な課題である。mRNAプロセッシングと核外輸送を効率よく行うためのmRNA核外輸送共役因子は、ヒトにおいてこれまで2種類同定されており、1つはUAP56を含むTREX複合体、もう1つはURH49を含むAREX複合体である。すでにUAP56のTREX複合体の形成様式とmRNA輸送経路は解明されているが、URH49のAREX複合体の形成様式とmRNA輸送経路については未解明のまま残されていた。そこで本研究ではURH49のAREX複合体形成様式およびmRNA輸送経路の分子機構の解明に取り組み、以下の知見を得た。

- 1) UAP56とURH49はATPの有無によって、それぞれapo型複合体とATP結合型複合体の2つの複合体様式をとるが、ATP存在下ではUAP56とURH49のいずれの場合においてもTHO複合体、ALYREF、およびCIP29を含むATP結合型複合体へとリモデリングすることを示した。
- 2) CIP29がURH49のmRNA輸送経路に寄与することから、apo型複合体の形成が選択的mRNA輸送において重要であることを示唆する結果を得た。またURH49によるmRNA輸送経路にはATP結合による複合体リモデリングが必須であることを示した。
- 3) UAP56によるmRNA輸送経路は、mRNAがALYREFを介したmRNA核外輸送共役因子NXF1のリクルートによって達成されるが、ALYREFならびにNXF1に結合するmRNAは、UAP56とURH49両方の標的mRNAが含まれていることを見出し、UAP56とURH49両方のmRNA輸送経路がNXF1で合流することを示した。

以上の成果は、mRNAプロセッシングと核外輸送を結ぶ分子機構の理解において不明なまま残されていた主要課題を解決するものであり、mRNAプロセッシングと核外輸送の全体像の理解に大きく貢献するものである。このように、申請者は生命科学に関する高度で幅広い学識、分子生物学分野における優れた研究能力を有し、生命科学の理解・発展に寄与する新しい発見ならびに概念を提示していると判断できる。また本論文は、論理的かつ一貫性を持って記述されていた。よって博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認めた。また、令和2年2月18日に論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第8条の規定により、猶予期間は学位授与日から3ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日： \_\_\_\_\_ 年 \_\_\_\_\_ 月 \_\_\_\_\_ 日