

京都大学	博士（生命科学）	氏名	山崎 智弘
論文題目	DEAD box型RNAヘリカーゼUAP56とURH49が形成するmRNA核外輸送経路に関する研究		
(論文内容の要旨)			
真核生物の遺伝子発現において、遺伝子はpre-mRNAとして転写され、キャッピング、スプライシング、ポリアデニル化の各プロセッシングを受け、成熟mRNAとなる。成熟mRNAはmRNA核外輸送因子によって細胞質へと輸送されることで、翻訳される。mRNAの核外輸送を担う因子は、出芽酵母からヒトにいたるまで良く保存されている。出芽酵母ではmRNAの核外輸送にDEAD box型RNAヘリカーゼSub2は必須である。ヒトには、そのホモログとしてUAP56とURH49という90%以上のアミノ酸配列の相同性を持つ2つの因子が存在している。UAP56 及びURH49は、いずれも出芽酵母Sub2の欠損を相補できることから、UAP56もURH49も同様の機能を持つと考えられるが、異なる機能を持つかは不明であった。本論文では、両者が異なる機能を持っているかを明らかにすることを試みた。 これまでの解析から、UAP56はhTH0複合体ならびにAlyとhTREX複合体を形成し、スプライシングに伴ってmRNA上にリクルートされてくることで、mRNAの核外輸送を促進する機能を持つことがわかっていた。ところがURH49が形成する複合体を免疫沈降法で精製を行うと、URH49はUAP56と高度に相同性を持っているものの、形成する複合体は異なり、hTH0複合体やAlyとの相互作用はほとんど見られず、CIP29と相互作用していた。そこでURH49-CIP29複合体をAREX (alternative mRNA export) 複合体と名付けた。さらにマイクロアレイ解析からUAP56、あるいはURH49をノックダウンすると、減少する遺伝子には違いがあることから、UAP56とURH49が異なる種類のmRNAの成熟に関わっていることが示唆された。一方、マイクロアレイ解析ではUAP56及びURH49をノックダウンした場合に、複数の有糸分裂に関わる因子が強く減少していた。UAP56では姉妹染色体の接着に関連する遺伝子群が減少しており、URH49では姉妹染色体の腕部の解離を促進する因子や細胞質分裂に関与する因子が顕著に減少していた。そこでノックダウンと生細胞観察・染色体の展開といった実験を組み合わせ、UAP56とURH49がノックダウンしたときの有糸分裂期の表現型を観察した。するとそれぞれのノックダウンで見られる遺伝子群の減少に一致するように、UAP56をノックダウンすると姉妹染色体の接着が失われ染色体の分離が起こっていた。一方、URH49をノックダウンすると染色体の腕部の解離や細胞質分裂に異常をきたした。さらにUAP56と複合体を形成するhTREX複合体の構成因子をノックダウンした場合にはUAP56をノックダウンした場合と同様の異常を示し、一方URH49と複合体を形成するCIP29をノックダウンした場合はURH49をノックダウンした場合と同様の異常を示した。このことからUAP56やURH49の機能は、異なる複合体を通して発揮されていることが示唆された。 本研究から、非常に相同性の高いUAP56とURH49は進化の過程で異なるmRNA核外輸送経路を形成するようになり、それぞれが独自の機能を有していることが明らかになった。加えて、UAP56、URH49以外の核外輸送因子で、出芽酵母では1つの遺伝子が、哺乳類などの高等真核生物では、いくつかの遺伝子に多様化していることが知られている。本研究から、他のmRNA核外輸送因子についても、高等真核生物ではそれぞれ機能分担を行っている可能性が推察された。			

(論文審査の結果の要旨)

真核生物では、遺伝子の情報をタンパク質として翻訳するためには、一旦遺伝情報をmRNAに転写し、mRNAは種々のプロセッシング過程を完了した後、核から細胞質に輸送される必要がある。これらの過程に関与する因子の探索は、出芽酵母での遺伝学的、生化学的研究により進展してきた。その結果、mRNA輸送の中核をなす因子は進化的に保存されていることが明らかとなった。ただし出芽酵母では1つの遺伝子にコードされているのに対し、ヒトなどの高等真核生物では配列上高い相同性を持ついくつかの遺伝子に多様化している場合がある。しかし、これらの遺伝子が重複した機能を有しているのか、あるいは異なる機能を有しているかについての解析は進んでいなかった。このうち、mRNA輸送にかかわるDEAD box型RNAヘリカーゼUAP56は、出芽酵母やショウジョウバエでは1つの遺伝子 (Sub2/He125E) にコードされており、mRNA輸送に必須の機能を持つ。一方、ヒトではUAP56以外に、UAP56と90%以上の相同性を持つURH49が存在している。これら2つのmRNA輸送因子の機能的な違いを、生化学的手法を用いた複合体精製の結果から、それぞれが形成する複合体の構成因子の違いがあること、また特異的なRNAiを用いたロックダウンによる表現型の解析から、制御するmRNAの種類に違いがあることを明らかにしている。

評価できる点は以下の点である。

1. 極めて高い相同性を持つUAP56とURH49に対する特異的な抗体を作製し、個々の機能を区別して研究する基盤を作っている。これらの抗体を用いてUAP56は、hTHO複合体とAlyで構成される既知のhTREX複合体を形成していること、URH49は、CIP29と相互作用し新規のAREX (alternative mRNA export) 複合体を形成していることを示している。このようにUAP56とURH49は高い相同性を持つにも関わらず、細胞内では異なる複合体を形成していることを明快に示している。
2. UAP56あるいはURH49を特異的にロックダウンすると、影響を受けるmRNA種が異なっていることをマイクロアレイ解析により見いだしている。このことより、2つの因子がmRNAのプロセッシング制御において異なる機能を担っていることを明らかにしている。さらにUAP56のロックダウンでは、染色体の早期分離に伴う有糸分裂期の遅延が、URH49のロックダウンでは、染色体の分離遅延と細胞質分裂異常という異なる表現系を観察している。加えて有糸分裂の異常の原因についても追究し、表現型を説明する遺伝子の発現量がUAP56あるいはURH49のロックダウンで特異的に減少していることを示している。
3. UAP56はhTREX複合体を、URH49はAREX複合体を形成するが、これらの複合体形成因子をロックダウンすると、いずれもUAP56あるいはURH49のロックダウンと同様の有糸分裂異常の表現型を示すことを明らかにしている。これよりUAP56とURH49は、それぞれが形成する複合体を機能ユニットとしていることが示されている。

以上、本論文は、ヒトでは多様化したmRNA輸送因子が、異なる複合体を形成し、それぞれが機能ユニットとして独自の機能を有することにより機能分担を行っていることを明らかにしたものであり、ヒトにおける遺伝子発現の基本メカニズムの解明に寄与すると考えられる。よって、本論文は博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認めた。

なお、平成22年8月2日、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。

要旨公開可能日： 2011 年 8 月 1 日