

審査の結果の要旨

氏名 荒木 保 弘

真核生物の遺伝子発現においては、転写の制御に加えて、mRNAの分解は負の制御機構として極めて重要である。酵母におけるmRNAの分解は主に細胞質で進行するが、はじめにmRNAの3'側poly(A)尾部が短縮され、その後mRNA本体は5'→3'及び3'→5'の二方向から分解される。両経路とも不活化すると酵母は致死となることから、mRNAの分解制御は成育に必須と考えられる。5'→3'分解経路では、poly(A)尾部の切断後、5'-キャップ構造が外れて5'→3'エキソヌクレアーゼにより分解されるが、この過程に関わる因子はすでに同定され、その機構の大略が明らかにされている。しかしながら、3'→5'分解経路の分子機構については不明の点が多い。

「出芽酵母のmRNA分解に介在するGTP結合タンパク質Ski7の構造と機能」と題する本論文においては、3'→5' mRNA分解経路に新規のG蛋白質Ski7が介在し、さらにこのG蛋白質がこれまで遺伝学的手法により単離されていた因子群と相互作用することを見出し、3'→5' mRNA分解経路の新たな分子機構を提唱している。

1. 翻訳終結因子 eRF3/GSPT に相同な機能未知因子 Ski7 の同定

翻訳終結因子 eRF3/GSPT には、一次構造上、伸長因子 EF1 α に相同性を有する C 末端側の G ドメインに加えて、N 末端側に長い領域が存在するが、その N ドメインは、mRNA の安定性や翻訳開始にも影響を与える poly(A) 結合因子と相互作用することが先に示されている。そこで、各種ゲノムデータベースから EF1 α 様ドメインを有しかつ長い N ドメインをもつ機能未知の G 蛋白質群が探索され、新規の G 蛋白質が同定された。この G 蛋白質は、時期を同じくして、他のグループにより酵母二重鎖 RNA ウイルスの遺伝子発現を誘発する変異体の原因遺伝子として単離された SKI7 遺伝子産物と同一であった。

2. mRNA の 3'→5'分解経路に介在する Ski7 の N ドメイン

SKI 遺伝子群の多くは、細胞質での mRNA 分解段階に関与するので、Ski7 も mRNA の分解段階に介在すると予想された。そこで、酵母において mRNA の分解に対する SKI7 遺伝子破壊の影響が検討された。野生株と SKI7 破壊株とで 5'→3'分解には差異は認められなかったが、SKI7 破壊株では 3'→5'方向の分解経路が特異的に抑制されていた。したがって、Ski7 は 3'→5'方向の mRNA の分解に関与することが示唆された。

さらに mRNA 分解における Ski7 機能ドメインの限定を目的に、SKI7 遺伝子破壊による 3'→5'方向の分解異常が Ski7 の各種欠失変異体で相補されるか否かが検

討された。その結果、SKI7 破壊株の表現型は Ski7N ドメインのみを発現することによって相補され、mRNA 分解には N ドメインが必要十分であり、EF1 α 様ドメインは必要でないことが明らかにされた。Ski7 の N ドメインのみが mRNA 分解に関与するというこの知見は、eRF3 の場合と類似しており、両 G 蛋白質間で共通性がある。

3. Ski7 の N ドメインを介した exosome 及び Ski 複合体との結合と生理的意義

これまでに、3'→5'方向への mRNA 分解に関わる因子群として、10 種の RNase から成る exosome と Ski2 (RNA ヘリカーゼ), Ski3, Ski8 から成る Ski 複合体が遺伝学的に単離されている。そこで、Ski7 が 2 つの複合体と相互作用する可能性が免疫沈降法で検定された。その結果、両複合体とも Ski7N ドメインに相互作用することが見出された。これは、exosome と Ski 複合体を生化学的に初めて結びつけた重要な知見である。

次に、Ski7 と両複合体との相互作用部位が解析され、Ski7 は異なる部位を介して exosome と Ski 複合体と相互作用することが明らかにされた。さらに、SKI7 遺伝子破壊による mRNA の分解抑制を救済するには、Ski7N ドメイン全体が必要であること、また、野生株に両複合体に対する結合領域のみを各々強発現すると、mRNA の分解抑制を誘発することが見出された。すなわち、Ski7N ドメインは、exosome, Ski 複合体の両者と機能的に相互作用して、mRNA 分解に寄与することが示された。

4. Ski 複合体を含まない Ski7-exosome 複合体の存在

Ski7 は exosome, Ski 複合体と相互作用することが示されたが、実際にはどのような複合体を形成しているのかを解明するために、exosome の免疫沈降が行われた。その結果、共沈画分に Ski7 は存在するものの、Ski 複合体は全く存在しなかった。この結果は、Ski7 は exosome, Ski 複合体の各々と異なる複合体を形成する可能性を示唆している。

以上を要するに、本研究は、eRF3/GSPTに相同な機能未知のG蛋白質Ski7が、mRNAの3'→5'分解経路に介在することを遺伝学的に初めて明らかにしている。さらにSKI7遺伝子破壊株の表現型を相補する解析から、mRNAの分解にはSki7のNドメインのみが必要十分であること、また同領域には、RNA分解酵素から成るexosomeとRNAヘリカーゼを含むSki複合体が、それぞれ異なる部位を介して機能的に相互作用することが示されている。以上の知見は、真核生物のmRNA分解の作用機序を考える上で意義深いものであり、博士(薬学)の学位として十分な価値があるものと認められる。