

審査の結果の要旨

氏名 星作男

本研究はモロニー Maus 白血病ウイルス (MLV) において、スプライスされない mRNA の発現に関わる遺伝子領域を明らかにするため、MLV 変異プロウイルスを用いてノーザンプロットによる RNA 発現量の解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 野生株よりの欠損実験より、スプライスアクセプター (splice acceptor, SA) nt 5491 の上流の nt 5325-5390 領域が、スプライスされない mRNA の発現に重要であることが示唆されていたが、領域を特定するに至っていなかった。今回 *pol* と *env* をほとんど欠損させて、*gag* のみをコードする MLV 変異プロウイルス G3.6 に SA の上流領域を挿入し、ノーザンプロットにより RNA 発現を調べた。その結果 nt 5119-5355 の 237 塩基領域は、MLV においてスプライスされない mRNA の発現を促す正のシス因子であることが示された。
2. G3.6 の *gag* をネオマイシン耐性遺伝子に置き換えると、スプライスされない mRNA の発現が上昇した。これより *gag* 領域内にスプライスされない mRNA の発現を抑制する領域が存在することが示唆された。そこで G3.6 の *gag* 領域を様々な欠損させた変異株を調製し、ノーザンプロットにより RNA 発現を調べた。その結果 nt 1560-1906 の 347 塩基領域は、MLV においてスプライスされない mRNA の発現を抑制する負のシス因子であることが示された。
3. G3.6 を用いて、正のシス因子と負のシス因子の欠損、挿入実験を行ったところ、正のシス因子は負のシス因子が存在するときのみ、スプライスされ

ない mRNA の発現を促すことが示され、正のシス因子は負のシス因子の働きを相殺することが示された。これより正のシス因子と負のシス因子の相互作用により、スプライスされない mRNA の発現が調節されていると考えられた。これらのシス因子は、置かれる位置に関係なく機能を発揮することが示された。

4. G3.6 の *gag* をネオマイシン耐性遺伝子に置き換えた後、正や負のシス因子をつないでみたが、RNA の発現に変化はみられなかった。ネオマイシン耐性遺伝子自身が、constitutive transport element (CTE)を持っているという可能性もあるが、実験事実を単純に解釈すると、これらのシス因子は MLV においてのみ、特異的に機能している可能性が示された。

5. これらのシス因子の作用機構については、核内での RNA 安定性や、CTE の可能性、スプライシングを抑制している可能性が考えられる。しかしコンピュータプログラムを用いた RNA 二次構造予測より、CTE として働いている可能性が示唆された。

以上、本論文はモロニーマウス白血病ウイルスにおいて、変異プロウイルスを用いたノーザンプロット解析から、スプライスされない mRNA の発現に関わる正と負のシス因子を明らかにした。レトロウイルスにおいて、スプライスされない mRNA の発現に関わる因子は、ヒト免疫不全ウイルスや、D-タイプレトロウイルスなど、わずかな報告例しかない。本研究はこれまで全く未知であったスプライスされた mRNA とスプライスされない mRNA の発現バランスの調節解明の糸口となり、ウイルスワクチン開発等臨床応用の可能性もあり、学位の授与に値するものと考えられる。