

審査の結果の要旨

氏名 作野 剛士

真核生物における適切な遺伝子発現の制御には、転写調節や翻訳後修飾を通じて必要な量と質のタンパク質を生産する機構が必須である。しかしながら、転写段階で厳密な制御を受けて生成した mRNA からタンパク質が必要量翻訳された後にも、残った mRNA はその鋳型として機能し続けるので、翻訳の状況に対応させて mRNA の安定性を制御する機構が必要となる。このような制御を理解する上で、mRNA の 5'末端に存在するキャップ構造は重要であり、その構造は脱キャップ (Dcp1: decapping) 因子群によって除去される。キャップが切断された mRNA は 5'末端から分解をうけると共に、翻訳の開始や終結およびその効率化に必要な mRNA の環状構造も崩壊する。したがって、タンパク質の生産に連動した mRNA の安定性制御を考える上で、5'末端のキャップ構造を mRNA から除去する脱キャップ因子の機能を理解することが重要となる。「mRNA の安定性を制御する脱キャップ酵素 Dcp1 の進化的保存性及びその翻訳終結反応への寄与に関する解析」と題する本研究においては、Dcp1 を介した mRNA 分解の制御機構が進化を通じて保存されていること、さらに Dcp1 は mRNA の安定性だけでなく、翻訳終結反応をも制御することを明らかにしている。

1. 分裂酵母における脱キャップ因子の単離

脱キャップ因子は、これまで単細胞の真核モデル生物である出芽酵母 (*S. cerevisiae*) でのみ同定・解析されていた。そこで本論文では先ず、進化を通じた脱キャップ因子の機能について理解することを目指した。出芽酵母と同様に単細胞ではあるが進化的により高等と考えられている分裂酵母 (*S. pombe*) の cDNA ライブラリーを用いて、出芽酵母の Dcp1 (Sc Dcp1) の破壊株が示す増殖遅延表現型の抑圧能を指標としてスクリーニングを行った。その結果、SPBC3B9.21 (*pombe* Dcp1) を同定した。*pombe* Dcp1 は Sc Dcp1 破壊株の mRNA 分解能が著しく低下する表現型についても抑圧することを示した。また、*pombe* Dcp1 は分裂酵母細胞において生育に必須な因子であること、およびその温度感受性変異株では mRNA 分解能が低下することを見出した。以上の結果から、単離された *pombe* Dcp1 は分裂酵母の脱キャップ因子であると結論している。

2. 脱キャップ因子 Dcp1 のヒトホモログの単離

pombe Dcp1 の配列に基づいてより高等な真核生物の相同因子を検索し、ヒトを含めた複数の生物種で N 末領域が高度に保存された因子を単離した。単離されたヒト Dcp1

はその N 末領域で pombe Dcp1 破壊株の致死性を相補できるのに対して、Sc Dcp1 破壊株の増殖遅延を相補できないことが見出された。この結果は、ヒト Dcp1 は pombe Dcp1 と機能的にもより近縁であることを示唆している。また、ヒト Dcp1 の N 末領域を pombe Dcp1 破壊株に導入すると、pombe Dcp1 の野生型導入株と同様な mRNA 分解能を示したことから、ヒト Dcp1 はその N 末領域で脱キャップ因子として機能することが示された。

3. 脱キャップ機能とは独立した Dcp1 の翻訳終結反応への寄与

脱キャップ因子は、これまでキャップの切断を介して mRNA の安定性を制御すると考えられてきた。しかしながら、Dcp1 の破壊株では終止コドンの読み飛ばし頻度が上昇していることを明らかにし、Dcp1 は翻訳終結反応を制御する可能性が示された。また、脱キャップ機能を野生型と同程度に保持していながら、読み飛ばし頻度の上昇する Dcp1 点変異体が新たに単離された。したがって、Dcp1 は脱キャップ機能とは独立に翻訳終結に関与することが示された。

4. 脱キャップ因子 Dcp1 による翻訳終結の制御に介在する因子の同定

新たに見出された Dcp1 の翻訳終結に対する制御機能は、翻訳や翻訳終結に機能する因子を介して発現すると予想された。そこで各種の翻訳終結及び mRNA 分解制御因子群と Dcp1 との物理的相互作用について検討を行った結果、Dcp1 は細胞内において Pab1 と相互作用することが見出された。Pab1 はポリ A 鎖に結合してポリ A 鎖の保護だけでなく、翻訳終結因子との結合を介して翻訳終結の制御にも機能している。Pab1 との相互作用は、Dcp1 の点変異体を用いると観察されないことから、翻訳終結を制御する Dcp1 の機能は Pab1 との相互作用を介して発揮される可能性が示された。

以上を要するに、本論文は、先ず Dcp1 の高等真核生物ホモログの同定を通じて、脱キャップを介した mRNA 分解制御機構に、分裂酵母以降の種では出芽酵母と異なる制御様式が存在することを明らかにし、その解析に分裂酵母が有用であることを示した。さらに、脱キャップにのみ機能すると考えられてきた Dcp1 が、脱キャップ活性とは独立に、Pab1 という翻訳の終結に必須な機能を果たす因子を介して翻訳終結反応を制御し得ることを示した。よって、本研究の結果は、Dcp1 を介した翻訳に連動する mRNA の安定性制御を理解する上で新たな視点を加えており、今後の研究の方向性に対して重要な知見を提供している点でも意義深く、博士（薬学）の学位論文として十分な価値があるものと認められる。