

審査の結果の要旨

氏名 打田 直行

真核生物の mRNA は 5 末端にキャップ構造を、他方の 3 末端に poly(A)鎖を有する。核内において付加されたこれらの構造は、細胞質における mRNA の翻訳及び安定性に大きな影響を与える。mRNA のキャップ構造と poly(A)鎖にはそれぞれ翻訳開始因子群 eIF4E/eIF4G と poly(A)鎖結合蛋白質 PABP が結合するが、近年、eIF4G と PABP の相互作用によって mRNA は環状化することが示されている。この環状化によって、翻訳を終えたリボソームは新たな翻訳開始に向けて効率よく再利用され得る。このとき、翻訳終結因子 eRF3/GSPT が PABP を介して開始因子とも相互作用し、終止コドンからキャップ構造までが蛋白質のブリッジで結ばれることも示された。一方、mRNA の分解においては、まず poly(A)鎖の分解が先行し、その後にキャップ構造が除去されて mRNA は速やかに分解される。したがって、poly(A)鎖分解が mRNA 分解過程の律速段階となる。この poly(A)鎖の分解は翻訳に依存して進行するが、実際に翻訳と poly(A)鎖の分解を結びつける分子機構は未解明であった。「翻訳の終結と mRNA 分解の開始を結ぶ分子機構の解析」と題する本論文においては、翻訳終結が poly(A)鎖分解と共役するメカニズムを解析し、その分子基盤をはじめて明らかにしている。

1. mRNA の poly(A)鎖分解を担うヒト RNA 分解酵素 PAN 複合体の単離とその性状解析

本論文では、哺乳動物細胞におけるメカニズムの解明を目指して、まずヒトの Pan2 (hPan2) と Pan3 (hPan3) からなるヒト PAN 複合体 (hPAN) の cDNA 単離に成功している。種々の生化学的な性状解析から、hPan2 は 3→5 方向に RNA を分解するエキソリボヌクレアーゼであり、hPan2 と hPan3 は複合体を形成すること、さらにこの hPAN 複合体は hPan3 を介して PABP と相互作用することを見出している。また、hPAN による poly(A) RNA の分解は PABP によって活性化され、この活性化は hPan2 と PABP を物理的に結びつける hPan3 を必要とした。PABP によって活性化された hPAN は poly(A)に対して高い基質特異性を有し、mRNA の poly(A)鎖分解を担うエキソリボヌクレアーゼとしての特性を保持していた。

2. 細胞質で翻訳が進行中の mRNA の poly(A)鎖分解に寄与する PAN 複合体

翻訳及び mRNA 分解は細胞質で進行するが、蛍光顕微鏡による観察から hPan2 及び hPan3 はともに細胞質に分布することが示された。さらに、リボソームが結合し翻訳

が進行している mRNA (ポリソーム) 画分に hPan2 及び hPan3 を検出し、hPAN は翻訳中の mRNA 上において poly(A) 鎖を分解する可能性が考えられた。そこで、RNA 分解活性を完全に失った hPan2 変異体 (D1083A) を細胞内に発現させて mRNA の poly(A) 鎖長に対する影響を検討した結果、D1083A を導入した細胞では長い poly(A) 鎖をもつ mRNA が検出された。したがって、hPAN は細胞内において翻訳が進行している mRNA 上において、その poly(A) 鎖の分解過程に寄与することが示された。

3. PABP に対して競合的に結合する PAN 複合体と翻訳終結因子 eRF3

翻訳中の PABP は翻訳開始因子 eIF4G 及び翻訳終結因子 eRF3 と結合するが、これら両因子と hPAN が同時に PABP と相互作用するかを検討した。その結果、eIF4G と hPan3 が PABP に同時に結合している状態は認められたが、eRF3 と hPan3 が共に PABP に結合している状態は検出できなかった。精製蛋白質を用いた実験から、PABP 上で hPan3 と eRF3 が競合する結果が得られた。さらに、細胞内においても hPan3 と eRF3 が PABP 上で排他的な関係にあるのかを検討し、翻訳状況の変化に応じて eRF3 と hPAN が PABP 上で入れ替わることが示された。

4. mRNA の poly(A) 鎖分解を制御する PABP と eRF3 の相互作用

eRF3 と PABP の相互作用の意義は mRNA の poly(A) 鎖分解過程にある可能性が考えられた。そこで、PABP との結合部位である N 末端領域を欠いた eRF3 の変異体を細胞に発現させてその影響を検討した結果、Pan2 の変異体 D1083A の場合と同様に、poly(A) 鎖の分解が全く進行しない mRNA が生じた。したがって、正常な poly(A) 鎖の分解が進行するためには、PABP と eRF3 の結合が重要であることが示された。

以上を要するに、本論文は翻訳終結と poly(A) 鎖分解の反応を解析し、その共役に関わる分子機構を以下のように明らかにしている。まず、終結因子 eRF3/GSPT が終止コドン上でもう 1 つの終結因子 eRF1 とともに翻訳の終結反応において機能し、次に PABP を介した eRF3 と開始因子との相互作用によりリボソームは新たな翻訳開始へと再利用される。その後、PABP 上で eRF3 と hPAN が入れ替わり、mRNA の poly(A) 鎖が分解される。これらの研究成果は、これまで不明であった翻訳終結と mRNA 分解の両反応が eRF3-PABP-hPAN 間の相互作用を介して共役することを明らかにしており、遺伝子発現機構の全容解明の観点からも意義深く、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。