

論文審査の結果の要旨

氏名 永池 崇

本論文は、「ミトコンドリア CCA 付加酵素の同定及び機能解析」、「ミトコンドリア病病因性変異を持つ変異型 tRNA における CCA 付加効率の低下」及び「ヒトミトコンドリア poly(A) Polymerase の同定及び機能解析」について述べられている。

ミトコンドリアには核とは独立したタンパク質合成系が存在する。ミトコンドリア (mt) ゲノムは非常に簡素な構成であるが、転写から翻訳までの発現機構については未解明な部分が多い。論文提出者は、これまで報告のなかった mt RNA の 3'末端成熟化を行う RNA スクレオチジルトランスフェラーゼの同定及び機能解析により、mt 翻訳系の分子機構に関する新たな知見を発表している。

「ミトコンドリア CCA 付加酵素の同定及び機能解析」で論文提出者は、ウシ肝臓ミトコンドリアを材料とし mt CCA 付加酵素を部分精製した後、質量分析法により、遺伝子の同定に成功した。CCA 付加酵素は基質となる tRNA の T ループ内の保存配列を厳密に認識するという報告があるが、動物 mt tRNA の多くは、T ループの保存配列を有していない。mt CCA 付加酵素の基質認識について解析するため、論文提出者はヒト mt CCA 付加酵素の mt tRNA に対する CCA 付加反応の効率を大腸菌 CCA 付加酵素と比較した。その結果、mt CCA 付加酵素は効率よく反応するのに対して大腸菌 CCA 付加酵素では反応効率が著しく低いことを明らかにした。このことから、mt CCA 付加酵素は大腸菌 CCA 付加酵素と異なり、T ループの保存配列を厳密に認識していないことを示した。ところが、T ループ全体が欠けた tRNA に対しては反応効率が顕著に下がるため、T ループの存在そのものは、mt CCA 付加酵素の認識に必要であると示唆している。

mt DNA の変異が様々なミトコンドリア病の病因になっていることは良く知られており、病因性変異のうちの 58%は tRNA 遺伝子中に存在している。よってそのような変異を持つ mt tRNA の機能解析はミトコンドリア病の病因を探る上で不可欠である。CCA 付加反応は mt tRNA が機能するために必須のプロセスであるため、もし変異により CCA 付加が阻害されるとすれば、mt タンパク質合成過程に重大な影響を与えることになり、病因の一つとなることが予想される。「ミトコンドリア病病因性変異を持つ変異型 tRNA における CCA 付加効率の低下」で、論文提出者は二つの変異に関して解析を行っている。一つは、幼児突然致死性症候群の病因である mt tRNA^{Gly} 遺伝子内の変異、もう一つは乳児致死性心筋症の病因である mt tRNA^{Leu} 遺伝子内の変異である。これらの変異はともに、CCA 付加酵素の認識部位である tRNA の T ループ上に存在しており、CCA 配列付加過程での効率の低下が発症の原因になっている可能性があることから、CCA 付加酵素による反応効率を調べた。その結果、これらの変異型では野生型 tRNA に比べて CCA 付加効率が著しく低下していることを示した。論文提出者は、これら変異 tRNA の構造そのものが変化していることから、このことが分子レベルでミトコンドリア病の発症に関与している可能性を示唆している。

「ヒトミトコンドリア poly(A) Polymerase の同定及び機能解析」で論文提出者はデータベ

ースサーチにより、ミトコンドリア移行シグナルが付いた PAP ホモログ (hmtPAP) を発見した。hmtPAP のミトコンドリア局在は GFP 融合タンパク質をヒトの培養細胞で発現させることで確認した。論文提出者は RNA 干渉法で hmtPAP をノックダウンすると、mt mRNA の poly(A) の長さが顕著に短くなることから、hmtPAP が mt PAP であることを示した。さらに、hmtPAP をノックダウンした場合、mt mRNA の定常量が顕著に減少していることを示した。このことから、ヒトミトコンドリアでは、poly(A) 付加が mt mRNA の安定化に必要であるということを初めて明らかにした。mt PAP をノックダウンすると、mt DNA にコードされているタンパク質が顕著に減少し、mt 膜電位と酸素消費量も著しく低下することも示している。

なお、「ミトコンドリア CCA 付加酵素の同定及び機能解析」の章は、鈴木勉博士、泊幸秀博士、竹本千重博士、根ヶ山文子氏、渡辺公綱博士、上田卓也教授との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（生命科学）の学位を授与できると認める。