

審査の結果の要旨

氏名 土井 祐介

真核生物における遺伝子の発現は、核内での mRNA への転写、スプライシング、5'-cap 構造と 3'-poly(A) 鎖の付加等に引き続き、成熟 mRNA の細胞質への輸送、そして蛋白質に翻訳される過程からなる。遺伝子発現の調節という観点からは、転写レベルでの調節に加え、mRNA 量（安定性）の制御が重要な要因となり得る。一般的に、3'-poly(A) 鎖の分解は mRNA 分解の引き金であり、poly(A) 鎖分解酵素として PAN 複合体と CAF1/CCR4 複合体が知られている。翻訳中の mRNA の poly(A) 鎖にはポリ(A) 結合蛋白質 PABP が結合し、無秩序な分解から保護されているが、この PABP に結合している翻訳終結因子 GSPT と PAN 複合体とが入れ替わり、翻訳終結と共役して poly(A) 鎖分解が起こるというモデルが提唱されている。しかしながら、このモデルを裏付ける詳細な分子機構は不明であった。「高等真核細胞における mRNA poly(A) 鎖分解制御機構の解析」と題する本論文においては、CAF1/CCR4 複合体と PABP との相互作用に介在する新規因子として Tob を同定し、Tob を介して CAF1/CCR4 複合体と PAN 複合体とが PABP 上で入れ替わることが最終的な mRNA 分解を誘起する重要な過程である可能性を示した。また、PABP 上での一連の入れ替わりは、GSPT, PAN 複合体(Pan3), CAF1/CCR4 複合体(Tob)が共通に有する PABP の C 末端側 (PABC ドメイン) 結合モチーフとの相互作用を介するという、新たな分子機構を提示している。

1. GSPT と PAN 複合体はそれらに共通する PABC 結合モチーフを介して PABP 上で入れ替わる

PABP はその C 末端側領域に、進化上よく保存された PABC ドメインを有している。一方、GSPT は N 末端側領域に PABC ドメインを特異的に認識する配列 (PABC 結合モチーフ) を有し、これを介して PABP と結合している。以上の知見から、PAN 複合体における PABP との結合サブユニット Pan3 の 1 次配列を検索したところ、N 末端側に 2 つの PABC 結合モチーフ様配列を見出した。PABP, Pan3 両者の変異体を用いた解析より、PABP と Pan3 との結合にはそれぞれの PABC ドメインと 2 番目の PABC 結合モチーフ様配列が必要であることを明らかにした。Pan3 と GSPT が PABP の C 末端側領域を介して競合的に結合することから、PABC ドメインと PABC 結合モチーフという共通のドメイン間相互作用を介し、PABP 上で GSPT と PAN 複合体(Pan3)の入れ替わりが起こることが示唆された。

2. CAF1/CCR4 複合体と PABP との相互作用は Tob の存在を必要とする

PAN 複合体とともに poly(A) 鎖分解酵素として同定されている CAF1/CCR4 複合体も、PABP と結合する。この結合も上述のドメイン間相互作用を介していることが想定された。しかしながら、CAF1/CCR4 複合体と PABP との結合は直接的なものではないため、PABC 結合モチーフをもつ新規介在因子の存在が示唆された。この基準を満たす分子を探索した結果、CAF1 相互作用因子群の中に PABC 結合モチーフ様配列を 2 個有する分子 Tob1/2 を見出した。PABP, Tob, CAF1 が 3 者複合体を形成すること、Tob と PABP がそれぞれ PABC 結合モチーフと PABC ドメインを介して結合することから、CAF1/CCR4 複合体を PABP 上にリクルートする新規分子として Tob を同定した。

3. PABP は Tob を介して CAF1/CCR4 複合体の有する poly(A) 鎖分解活性を促進する

CAF1, CCR4 は共にヌクレアーゼドメインを有するが、高等真核生物における CAF1/CCR4 複合体の活性本体は CAF1 であることを明らかにした。また、*in vitro*において CAF1 は単独では poly(A)RNA 分解活性をほとんど示さないが、PABP と Tob が同時に存在する場合にのみ、poly(A)RNA の分解活性が顕著に出現することを見出した。さらに、細胞内においても、PABP と Tob の結合の解離が mRNA 量の蓄積につながることを示した。これらの結果から、PABP, Tob, CAF1/CCR4 複合体の三者が複合体を取った際に最も効率の良い poly(A) 鎖分解反応が起こることが考えられた。

本研究において、PABP 上での翻訳終結因子 GSPT と poly(A) 分解酵素群の入れ替わりに関し、PABC ドメインと PABC 結合モチーフを介する共通のドメイン間相互作用の存在を見出した。翻訳の終結と共役して、まず GSPT と poly(A) 鎖分解酵素 PAN 複合体 (Pan3) が、それらの PABC 結合モチーフでの競合を介して PABP (の PABC ドメイン) 上で入れ替わり、初期の poly(A) 鎖の分解が始まる。ある程度分解が進んだ後、PAN 複合体 (Pan3) と Tob が、それらの PABC 結合モチーフでの競合を介して PABP 上で入れ替わり、Tob と結合している CAF1/CCR4 複合体が poly(A) 鎖分解を担うようになる。そして、CAF1/CCR4 複合体によって poly(A) 鎖が十分に短縮化されることが、mRNA 全体の分解に寄与することを示している。これらの研究成果は、mRNA の分解を誘起する poly(A) 鎖短縮機構の分子基盤の理解に有用な知見を提供しており、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。