

論文審査の結果の要旨

氏名 望 月 潔 隆

本論文は4章からなる。第1章は序論であり、真核生物の翻訳開始反応制御と、その制御異常による細胞のがん化促進に関して、今までの知見がまとめられている。その中で論文提出者は、翻訳開始因子 eIF4E の発現量と細胞の悪性腫瘍化の関連性から、制がん戦略として過剰な翻訳開始反応を抑制する抗がん剤の創製の重要性を指摘している。この制がん戦略は、翻訳開始反応上流に位置する mTOR の機能阻害剤ラパマイシンが優れた抗がん剤として既に大きな効果を上げている例などからも、高い阻害特異性が期待できると考えられ評価できる。さらに、論文提出者は eIF4E の機能性と構造的に着目し、eIF4E に対する RNA 製の阻害剤創製の意義を述べている。近年、RNA 製の抗体医薬品として RNA アプタマーの応用展開が世界的に始まっている。本学位論文の研究は、細胞内因子を標的分子として創製した RNA アプタマーを応用するための基礎研究を背景とし、RNA 工学を用いた新規の標的分子阻害系を構築することに主眼を置いている。また、eIF4E の発現異常によるがん化のメカニズムには未知の部分が多く、世界的な研究が活発に行われている分野であり、eIF4E に対する特異的阻害剤は分子生物学的ツールとしてこれらの研究に有効利用されることが考えられる。

第2章は実験結果について述べられている。論文提出者は、ほ乳類の eIF4E タンパク質を精製し、これに対して結合する RNA 分子を *in vitro* selection 法により選択している。選択条件は一般的な方法であり、結合力の非常に高い2種類の RNA アプタマーの選択に成功したことが述べられている。この際に、より強く結合するアプタマーを取得するための選択条件の模索や、ある機能的特性をもつアプタマーのみを選択するための競合選択などの試行錯誤を行い、様々なアプタマーを取り揃えた上で、それらの生化学的特性を帰納し、考察していたのであれば、その後の実験と応用展開に関して、より広がりができたと思われる。この点に関して論文提出者は、得られたアプタマーの解析系の構築を優先し、特に aptamaer 1 に対する生化学的機能解析を重

視し、in vitro selection 時の問題点や eIF4E に結合する RNA 分子の特性などを深く考察することで、研究を総括することを試みている。eIF4E に結合するアプタマーの生化学的解析では、アプタマーによる eIF4E の既知の機能性に対する阻害効果を逐次検証し、aptamer 1 が eIF4E のキャップ結合を阻害することを合理的な解析法を用いて指摘している。この際、aptamer 1 による eIF4E のキャップ結合阻害効果の原因を eIF4E の構造的知見から推察し、アプタマーとの相互作用に関わる側鎖を特定するなど、論理的に実験を展開していることが見受けられ、これらの点からも論文提出者の洞察力とそれを判別するための実行力は評価できる。また、標的タンパク質の一アミノ酸の置換により、RNA アプタマーが認識できなくなることは他に報告例が少なく、RNA アプタマーの性質を理解する上で非常に興味深い結果であり、本学位論文による重要な知見の一つと言えるだろう。

第 2 章終盤では RNA アプタマーの細胞内発現実験に関して述べられている。標的タンパク質であるヒト eIF4E で生育する出芽酵母の作成と、リボザイムを用いた新規の non-coding RNA 発現系の構築により、aptamer 1 による細胞内 eIF4E の機能抑制に成功したことが報告されている。細胞内で RNA アプタマーを機能発現させた報告例は極めて稀であり、この結果は重要なチャレンジである。この解析に至るまでには様々な試行錯誤がなされており、RNA アプタマーを活用するための論文提出者の創意工夫と努力は高く評価できる。

第 3 章は第 2 章の結果に対する考察が述べられている。RNA アプタマーの選択的性質、機能的特性、機能条件などが広く考察されており、また簡潔にまとまっている。これらの考察を踏まえた後、論文提出者は RNA アプタマー発現時の問題点を洞察し、今後の RNA 医工学的応用展開のための解決策を提言しており、本学位論文を非常に意義のあるものにしてている。

最後の第 4 章には実験方法について述べられている。本学位論文の実験素材と手法に関しての詳細が全て網羅されている。

なお、本論文第 2 章は、小黒 明広・大津 敬・Nahum Sonenberg 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（理学）の学位を授与できると認める。