

論文審査の結果の要旨

氏名 大野 里奈

本論文では、マウス ES (embryonic stem) 細胞において PTB (polypyrimidine tract-binding protein) が CDK11^{p58} の IRES (internal ribosome entry site) 依存的翻訳を直接抑制し、M 期の進行・離脱に関与していることを明らかにした。

また、体細胞とは異なる、ES 細胞特有の IRES 依存的翻訳制御経路を明らかにした。

本論文では、まず *ptb* 欠損 (*ptb*^{-/-}) ES 細胞の解析を行い、増殖能が低下していることを明らかにし、その原因は M 期の進行・離脱が遅れているためであることを明らかにした。

ES 細胞の M 期の進行・離脱の制御に関する研究はほとんどなされていなかったが、*ptb*^{-/-} ES 細胞の M 期後期に見られた染色体分離異常が、CDK11^{p58} の発現異常で起こる染色体分離異常と酷似していたことから、ES 細胞における CDK11^{p58} の発現とその制御に着目している。

CDK11^{p58} の発現は ES 細胞の M 期において変動することが明らかになったが、*ptb*^{-/-} ES 細胞では変動せず、高発現していることが明らかになった。そこで、CDK11^{p58} の発現異常が *ptb*^{-/-} ES 細胞の M 期の進行・離脱の遅れの原因になっていると考え、CDK11^{p58} の発現制御について解析を行っている。

CDK11^{p58} の RNA の発現パターンは野生型と *ptb*^{-/-} ES 細胞で差がなかったことから、CDK11^{p58} の IRES 依存的翻訳制御の解析を行い、PTB は CDK11^{p58} の IRES 活性を抑制することを明らかにした。

先行研究により、体細胞において PTB が CDK11^{p58} の IRES 活性を抑制することが報告されていたが、本論文により ES 細胞においても PTB が CDK11^{p58} の IRES 活性を抑制することが明らかになった。

しかし、その制御経路は体細胞で報告されているものとは異なるものであることを明らかにした。

体細胞では PTB が UNR (upstream of N-ras) の発現を介して CDK11^{p58} の IRES 活性を間接的に抑制していることが報告されていた。UNR は CDK11^{p58} の IRES 活性を促進するが、PTB により UNR の IRES 活性が抑制されていると考えられていた。

しかし、*ptb*^{-/-} ES 細胞で UNR の発現が亢進していなかったことから、ES 細胞では PTB による UNR の発現抑制が起こっていないことが示された。さらに、M 期において UNR の発現が変動していなかったにも関わらず、CDK11^{p58} の発現が変動していたことから、ES 細胞においては UNR による CDK11^{p58} の IRES 依存的翻訳制御が起こっていないこ

とが示された。

一方で、PTB の発現が ES 細胞の M 期において変動していたことから、ES 細胞では PTB が CDK11^{p58} の IRES 依存的翻訳を直接抑制しているのではないかと推察した。

RNA ゲルシフトアッセイ及び、UV crosslinking と免疫沈降実験から、PTB が CDK11^{p58} の IRES に *in vitro*、*in vivo* 共に結合することを明らかにした。また、*in vivo* では ES 細胞特異的な結合が観察された。

これらの結果から、ES 細胞では UNR の発現を介さず、PTB が直接 CDK11^{p58} の IRES 活性を抑制していることを明らかにした。

本論文により、PTB の欠損は ES 細胞の M 期において CDK11^{p58} の発現異常を起こし、染色体分離異常の増加により、M 期の進行・離脱に遅れを引き起こすことを明らかにした。

さらに、ES 細胞において PTB が体細胞とは異なり、CDK11^{p58} の IRES 依存的翻訳を直接制御しており、ES 細胞特有の IRES 依存的翻訳制御経路が存在することを明らかにした。

ES 細胞の細胞周期制御に関しては G1 期の制御に関する研究が近年進んできているが、細胞周期により発現が変動する因子の解析なども含めて、未だ不明な点が多い。本論部により、ES 細胞特有の細胞周期制御機構の一端を明らかにすることができ、その研究成果は評価に値すると考えられる。

したがって、博士 (生命科学) の学位を授与できると認める。