

論文審査の結果の要旨

氏名 遠藤 慧

本学位論文は、RNA アプタマーを用いた RNA の機能解析システムの開発について述べられており、5 章から構成される。第 1 章は序論であり、細胞内の RNA が持つ機能性と、人工的な機能分子であるアプタマーについて述べられている。標的分子に高い親和性と特異性をもって結合するアプタマーが幅広い分野で応用されているなか、論文提出者は、RNA アプタマーを他の機能的な RNA 分子に組み込んで利用することに注目している。本論文では、タンパク質研究で用いられているペプチドタグと比較しつつ、RNA アプタマーをタグとして用いた RNA 機能解析方法の開発を試みている。RNA 分子の細胞内機能は従来考えられてきたよりも多様であると推測されており、その機能を検証する方法論の開発が急がれている。このことから本論文の取り組みの重要性は評価できる。

第 2 章、第 3 章は本論文でおこなわれた実験の結果について述べられている。第 2 章では、色素分子を係留することにより RNA 分子を検出・可視化する RNA タグの開発を目指し、汎用の蛍光色素 Cy3 に対する RNA アプタマーを取得している。本論文で取得された抗 Cy3 アプタマーは Cy3 と相互作用することにより Cy3 の蛍光強度を高めることが示された。また、このアプタマーは 2 つのドメインから構成されており、色素に対するアプタマーとして新規の特徴を持つことが明らかにされた。論文提出者は後者の特徴を活かし、アプタマーの 2 つのドメインを分割して応用研究を展開している。まず、生理条件下で特異的に核酸分子を検出する分割型プローブとして応用ができることを示した。次いで、分割型アプタマーを RNA タグとして使い、RNA 間相互作用を検出するシステムを開発した。このうち特に後者は本論文により提唱された重要な知見といえる。

第 3 章では、細胞内タンパク質を係留し RNA 上にて機能させる RNA 因子の開発を目指し、そのテストケースとして、mRNA 上で *cis* 因子として遺伝子発現を制御する RNA アプタマーを開発、検証している。本論文では、スプライシング反応依存的に mRNA 上に形成される複合体の構成因子 eIF4AIII に対するアプタマーを

取得している。その際に、高い相同性を持つ 2 つのタンパク質因子 eIF4AI と eIF4AIII の双方と結合する RNA アプタマーから、eIF4AIII 特異的に結合する RNA アプタマーへ改変を行っている。まず、取得された eIF4AIII 特異的アプタマーによる eIF4AI と eIF4AIII との識別機構について解析している。さらに、アプタマーが eIF4AIII の既知の機能を阻害しないことをあらかじめ検証したうえで、アプタマーを mRNA へ組み込み、遺伝子発現へ及ぼす影響を検証している。細胞内の転写後制御因子を mRNA へ係留するアプタマーを用いた mRNA 動態制御はこれまでに例のない挑戦である。mRNA 上の cis 因子として RNA アプタマーの応用性を示唆した本論文は、外来遺伝子の発現をより詳細に制御する方法としても、基礎から応用に至る幅広い分野で意義深い。

第 4 章には第 2 章、第 3 章でおこなわれた実験結果について詳細な考察が述べられている。まず、アプタマーの改変や標的分子の改変を通じて、本論文で取得された各アプタマーとその標的因子との相互作用について、アプタマーの結合が標的因子に及ぼす影響とともに、議論が深められている。さらに、その結合特性を活かしたアプタマーの応用展望や、より高機能を持つアプタマーの取得方法についても十分な議論がなされており、今後のアプタマーの応用研究に示唆を与えているといえるだろう。

最後の第 5 章には本論文でおこなわれた実験の材料と方法について十分に述べられている。

論文提出者は、RNA アプタマーをその標的分子の係留因子として捉え、新規アプタマーを取得するだけでなく、それぞれのアプタマーについて新規応用方法を開発している。RNA アプタマーを他の RNA 分子に組み込んで用いることを検証した本論文の成果は、今後、生体内における様々な RNA 分子の機能解明に寄与すると考えられる。

本論文は指導教官である中村義一教授との共同研究であるが、論文提出者が主体となって解析および検証をおこなったもので、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。