

論文試験の結果の要旨

氏名 山下 征輔

本論文は第 1 章(序章)、第 2 章、第 3 章、第 4 章(総合討論)の 4 章から構成されている。

第 1 章では、本論文で行った研究の背景と目的を記載している。まず、microRNA(miRNA)による遺伝子制御機構に関して概説し、これまでの研究の歴史と背景を解説している。そして、miRNA 経路における、様々なタンパク質因子間の複合体形成の重要性を踏まえ、その構造基盤の理解のためには X 線結晶構造解析や、その前段階としての結晶化試料の調製が重要であることを提起している。

第 2 章では、主要なヒト miRNA 関連タンパク質のうち、hAgo2、hDicer、TRBP について結晶構造解析に向けた試料調製法を記述している。特に hAgo2 は、miRNA に直接結合するなど miRNA による遺伝子抑制に中心的な役割を果たすタンパク質であるにもかかわらず、これまでに全長の立体構造は報告されていない。これはおそらく、タンパク質が凝集しやすいことや、核酸と強固な結合をすることなど hAgo2 の性質の悪さによるものであると考えられる。しかし論文提出者は、相互作用する因子である TNRC6 タンパク質と複合体を形成させることにより安定性を向上させ、さらに核酸を含まない一部の試料のみを回収するという戦略یによって、均一な試料の大量調製が可能となることを示している。

第 3 章では、TRBP タンパク質の N 末端側の 2 本鎖 RNA 結合ドメイン(dsRBD)の X 線結晶構造解析と、その構造情報に基づいて行われた TRBP の全般的な生化学的解析の結果について述べている。TRBP には、本論文で立体構造が報告されている dsRBD とは別に、もう一つ RNA 結合活性を持つ dsRBD が存在し、その立体構造は論文提出者らのグループにより明らかにされている。論文提出者は、この 2 つの dsRBD の立体構造について考察するとともに生化学的実験を行い、いずれも同様の立体構造や RNA 結合活性を持つことを示した。さらなる解析からこの 2 つの dsRBD は全長タンパク質において、同時に 1 分子の RNA に結合するという協働的な活性を持つことも明らかにしている。

第 4 章では、第 2 章で行った組み換えタンパク質の調製法の確立と、第 3 章での TRBP の機能・構造解析の二つの結果を踏まえた議論を展開している。調製法の検討過程で得られた知見や機能解析、構造解析の結果に基づいて、miRNA 経路における未解明の課題について幅広く考

察するとともに、今後解析を行うための具体的な手法についても述べている。

本論文に記載された一連の研究は、miRNA 経路のメカニズムに具体的な知見をもたらしたと同時に、今後種々の miRNA 因子の構造解析に大きく貢献することが期待されるものでもある。特にこれまで hAgo2 の大量調製が困難であったことは、ヒトの miRNA 経路を解析する際の律速とも言える課題であった。本研究においてはその解決法が示されており、当該分野の発展に向けて大きな意義を持つと評価する。また、論文提出者は当該分野における包括的知識と議論の能力を十分に有していると判断する。論文は全体にわたり、平易で明快な文章により記述されている。

なお、本論文の第 3 章は永田崇(京都大学特任助教)、川添将仁(理化学研究所リサーチアソシエイト)、竹本千重(理化学研究所上級研究員)、木川隆則(理化学研究所チームリーダー)、Peter Güntert(ゲーテ大学教授)、小林直宏(大阪大学研究員)、寺田貴帆(理化学研究所上級研究員)、白水美香子(理化学研究所上級研究員)、脇山素明(理化学研究所上級研究員)、武藤裕(理化学研究所チームリーダー)、横山茂之(東京大学教授)らとの共同研究であるが、論文提出者が主体となって実験および考察を行ったものであり、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。