

## 審査の結果の要旨

氏名 中條 岳志

申請者が行った研究は、ヒトミトコンドリアにおけるメッセンジャーRNA (mRNA) 代謝の全体像と分子機構の理解を大きく前進させた研究である。

ミトコンドリアは真核細胞に存在する細胞内小器官であり、細胞の ATP 産生において中心的な役割を担う。真核生物の進化の過程において、ミトコンドリアは好気性細菌が細胞内共生したことに由来するため、ミトコンドリアは核ゲノムとは独立したゲノムと遺伝子発現系を有する。ヒトの 11 種類のミトコンドリア mRNA のうち 10 種類は、ミトコンドリア内で転写された共通の前駆体 RNA が切り分けられることによって生じる。従って、これら 10 種類のミトコンドリア mRNA は同じコピー数だけ生成されると考えられる。しかしながら先行研究によってこれら 10 種類の mRNA のコピー数は異なることが示唆されている。加えて、ミトコンドリア mRNA は mRNA 種ごとに固有の半減期を持ち、半減期は 68 分から 231 分と広範に及ぶことが当研究室の先行研究により示されている。従って、ミトコンドリア mRNA の定常状態量は転写後の代謝過程で調節されていると考えられる。以上の背景をふまえ、申請者による研究ではヒトのミトコンドリアにおける mRNA 代謝の全体像を解明し、その分子メカニズムを理解することを目的とした。

ミトコンドリア mRNA 代謝の全体像を正確に理解するためには具体的なミトコンドリア mRNA のコピー数の情報が必要である。本論第一章において、申請者はヒトの培養細胞である HeLa 細胞中に存在する全 11 種類のミトコンドリア mRNA の分子数を絶対定量した。解析の結果、一細胞中に存在するミトコンドリア mRNA のコピー数が 6,000 個 (ND5 mRNA) から 51,000 個 (COX2 mRNA) と広範に及ぶこと、および mRNA のコピー数が mRNA の寿命と相関することを明らかにした。これらの結果は、ミトコンドリア mRNA は安定性・分解レベルで制御されていることを強く示唆するものである。加えて、ミトコンドリア mRNA のコピー数を同定した事例は報告されておらず、ミトコンドリア研究における重要な基礎データが得られた。

本論二章では、申請者はミトコンドリア mRNA の代謝に関与すると予想されたタンパク質複合体の機能と生化学的な特性の解析を行った。その結果、

LRPPRC と SLIRP というタンパク質から構成される LRPPRC/SLIRP 複合体が半減期の長いミトコンドリア mRNA を安定化すること、LRPPRC/SLIRP 複合体がミトコンドリアの全 11 種類の mRNA に結合し、この結合が mRNA に限定されたものであること、LRPPRC/SLIRP 複合体が mRNA のポリ A 鎖には結合せず翻訳領域に転写直後に結合すること、LRPPRC/SLIRP 複合体の分子機能が mRNA のポリ A 鎖の維持である点を明らかにした。

本論第三章において申請者は RNA 干渉法と転写阻害実験を用いて mRNA を分解する酵素の分子実体を探索した。その結果、PNPase という 3'エキソヌクレアーゼがミトコンドリア mRNA を分解する主要な酵素であることを明らかにした。加えて、RNA 分解酵素である PNPase のみならず、RNA ヘリケースである SUV3 もミトコンドリア mRNA を分解するために必要であることを確認した。分解酵素の実体を同定したことはミトコンドリア mRNA の代謝を理解する上で極めて重要であり、本分野の発展に資するものである。

申請者は二章と三章で得られた結果をふまえて、本論第四章において LRPPRC/SLIRP 複合体が mRNA のポリ A 鎖の生合成を促進するという仮説を立て、検証した。その結果、LRPPRC/SLIRP 複合体が細胞内でポリ A 付加を促進するために必要であること、および試験管内で LRPPRC の存在がミトコンドリアポリ A 付加酵素の反応を促進する十分条件であることから、上記の仮説が正しいことを証明した。加えて、ポリ A 付加酵素と LRPPRC を用いた試験管内の実験より、ポリ A 付加酵素が認識する基質 RNA の特徴、及び LRPPRC によるポリ A 付加の促進に関する詳細な知見を得た。

申請者による上記の研究の結果、ヒトのミトコンドリアにおける mRNA 代謝の全体像が明らかになり、その詳細な分子メカニズムに対する理解が大きく深められた。研究成果は申請者と鈴木教授により *Nucleic Acids Research* 誌に投稿され、受理および公開された (doi: 10.1093/nar/gks506)。

上記の研究に加えて、申請者はヒトのミトコンドリア tRNA 58 位に存在する 1 メチルアデノシンという塩基修飾を触媒する酵素が Trmt61B であることを同定した。この研究成果も申請者と鈴木教授により論文が投稿された。

本審査は平成 24 年 2 月 14 日に東京大学大学院の鈴木勉教授、後藤由季子教授、上田宏准教授、秋光信佳准教授、および産業技術総合研究所の廣瀬哲郎チーム長によって行われた。

本研究は申請者が主体となって立案および実行されたものであり、本研究を展開する過程で申請者は新たな研究分野を開拓し研究を遂行するための学識と手法を取得した。

よって本論文は博士（工学）の学位請求論文として合格と認められる。