

論文審査の結果の要旨

氏名 依田 真由子

本論文は、様々な生命現象を緻密に制御することが知られている small interfering RNA (siRNA) や microRNA (miRNA) などの小分子 RNA がどのようにして働くのかという大きな疑問に対し、そのエフェクター複合体である RNA-induced silencing complex (RISC) のヒトにおける形成過程に関する研究成果をまとめたものである。本論文は 5 章からなり、第 1 章は siRNA や miRNA などの小分子 RNA とその RISC 形成、および RISC の遺伝子発現制御機構についての序論である。研究結果は第 2 章から第 4 章まで記述されており、第 2 章は ATP 依存的なヒト RISC の形成過程、第 3 章は siRNA や microRNA など生合成に Dicer を必要とする典型的な小分子 RNA による RISC 形成過程、第 4 章は Dicer 非依存的に生合成される miR-451 の RISC 形成過程について述べられている。第 5 章は全体を通じた総合討論である。

第 2 章では、これまでショウジョウバエとヒトにおいて、ATP の

依存性や、Dicer による小分子 RNA 前駆体の切断と RISC 形成との共役について矛盾する結果が報告されており議論が分かれていたが、今回の研究結果により矛盾が見事に整理され、ショウジョウバエにおいてもヒトにおいても、RISC 形成は Dicer によるプロセッシングと独立した ATP 依存的な反応であることが示された。過去に報告された、ATP 非依存的な RISC 形成は、正規のものではなく、一本鎖 RNA が「バイパス経路」という本来細胞内では起こらないような様式で RISC を作っていたものを観察していたと考察できる。

第 3 章では、ヒトの RISC を直接検出するためのアガロースネイティブゲルシステムを確立し、それによって、RISC 形成における 2 つの素過程、すなわち小分子 RNA 二本鎖が Argonaute タンパク質に取り込まれる段階(RISC loading)と、Argonaute タンパク質の中で RNA 二本鎖が引きはがされる段階(unwinding)のそれぞれにおいて、必要な小分子 RNA の構造的特徴を明らかにした。これにより、miRNA 遺伝子がなぜ特定の位置にミスマッチを持っているのかということが生化学的に説明可能となったばかりでなく、この知見を利用することで人工的な miRNA を論理的に設計することも可能となった。

第 4 章では、Dicer 非依存的に生合成されるユニークな miRNA である miR-451 の RISC 形成過程をモニターできる実験系を確立し、miR-451 の成熟化、すなわち 3'末端の削り込み反応の特徴を見いだした。さらには、古典的なクロマトグラフィーを駆使することにより、削り込みに関与する因子を同定することに成功した。

なお、本論文第 2 章は、Zain Paroo 博士、Xuecheng Ye 博士、Qinghua Liu 博士、岩崎信太郎 博士との、また、第 3 章は川俣朋子 博士との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析およ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(生命科学)の学位を授与できると認める。

以上 1,337 字