

# 論文審査の結果の要旨

氏名 増田 周作

本論文では、哺乳類の概日時計において時計タンパク質である PER2 及び DBP に対する翻訳後修飾を介したタンパク質安定性の制御について論じられており、全 7 章から構成されている。

第 1 章では当該分野における研究の背景について概説されている。哺乳類の概日時計の発振機構は時計タンパク質の転写・翻訳を介したネガティブフィードバックに基づいており、時計タンパク質 PER2 はこの機構において転写抑制因子として機能していることが記述されている。また、概日時計の発振機構を制御する仕組みの一つとして、時計タンパク質の翻訳後修飾の重要性が示されている。加えて、翻訳後修飾の中でも、論文提出者が着目しているユビキチン化修飾について概説されている。

第 2 章では、時計タンパク質 PER2 の点変異マウスを用いた解析についてまとめられている。この変異箇所のセリン残基がリン酸化酵素 CK1 によってリン酸化されると PER2 の分解が促進することが示唆されていたものの、概日時計の振動速度に対する寄与は検証されていなかった。論文提出者はまず、この変異がマウス個体の行動リズムを長周期化することを見出した。この変異マウスにおいて PER2 タンパク質は安定化すると期待されたため、論文提出者は mRNA とタンパク質の発現量を解析した。その結果、*Per2* mRNA 量は両遺伝子型間で有意な差がなかったにもかかわらず、変異型マウスにおいて PER2 タンパク質量が増加することを見出した。さらに、この PER2 タンパク質の増加により、CRY1 や CRY2 といった他の時計タンパク質が安定化することを明らかにした。これらのタンパク質の安定化も概日時計の長周期化に寄与する可能性があるとして論文提出者は議論している。また、行動リズムの長周期化と一致して、概日時計の制御下にある遺伝子の発現パターンが影響を受けることを示した。また、PER2 変異マウス由来の培養細胞において、PER2 の概日時計の周期の温度補償性が弱まることが明らかにされた。本研究は、概日時計の発振機構における PER2 のリン酸化制御の重要性を理解するうえで極めて重要な知見を含んでいるといえる。

第 3 章では、時計タンパク質 DBP の安定性を制御する翻訳後修飾因子の同定についてまとめられている。論文提出者は E2 ユビキチン結合酵素の活性変異体スクリーニングと、先行研究によるインタクトーム解析の結果から DBP の安定性制御を担う E2 ユビキチン結合酵素と E3 ユビキチンリガーゼを同定した。この E3 リガーゼの機能欠損は DBP タンパク

質の日内発現パターンを大きく変化させた。DBP の発現パターンの変化は下流の遺伝子発現に影響を与える可能性が高いと論文提出者は議論している。

第4章では、第2章と第3章の研究結果や考察をふまえた総括が述べられている。

第5章から第7章では出典、略語、謝辞が記載されている。

なお、本論文の第2章は Rajesh Narasimamurthy 氏、吉種光氏、Jae Kyoung Kim 氏、深田吉孝氏、David M Virshup 氏との、第3章は布川莉奈氏、吉種光氏、秦裕子氏、尾山大明氏、饗場篤氏、井上純一郎氏、深田吉孝氏との共同研究であるが、論文提出者が主体となって立案・遂行したものであり、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって本審査委員会は、博士（理学）の学位を授与できると認める。