

審査の結果の要旨

氏名 青山 智彦

本論文は七章から構成されており、第一章では本研究の要旨、第二章では当該分野の背景、第三章では使用試薬と実験手法、第四章では実験結果と導き出された結論と考察、第五章では研究成果の当該分野への関連や波及効果の議論、第六章では本論文における参考文献、第七章本論文の執筆にあたっての謝辞が述べられている。

第一章では、本論文の成果についての要旨が述べられている。研究の背景・結果・結論について簡潔に示されている。第二章では、本研究の背景について述べられている。まず、RNAの m6A 修飾の生体内での役割について概説されている。次に、m6A 修飾酵素・m6A 脱メチル化酵素・m6A 結合タンパク質の特徴と機能が紹介され、遺伝子発現制御との関与が述べられている。そして、本論文で着目して解析が行われた、RNA の m6A 修飾酵素 METTL16 (methyltransferase like 16) について説明されている。具体的には、METTL16 による RNA の m6A 修飾機構と標的 RNA の m6A 修飾の機能についての知見が紹介されている。第三章では、本論文の執筆に際して使用された試薬と実験の方法について述べられている。特に、試験管内における RNA のメチル化反応の定量系は、本論文のなかで新たに構築されたものであることから詳細に説明されている。第四章では、本研究で行われた解析結果について、どのような考えのもとで行われたのかを含め詳細に説明されている。まず、METTL16 による RNA の m6A 修飾反応を定量的に解析する評価系の構築について述べられている。本論文では、新規メチル化活性評価系を利用することで、METTL16 による RNA の m6A 修飾機構の解析を行っている。具体的には、METTL16 の C 末端側のドメインである VCR (vertebrate conserved region) が標的 RNA の m6A 修飾に寄与するかどうかを検証し、METTL16 は VCR によって標的 RNA の認識を効率化し、m6A 修飾反応を促進することを見出している。本論文では、VCR による RNA の m6A 修飾促進機構を明らかにするため、X 線結晶構造解析により VCR の結晶構造を決定している。その結果、METTL16 の VCR の構造は、TUT1 (Terminal uridylyl transferase 1) の RNA 結合ドメイン KA1 と非常によく似た構造であることが明らかにしている。そして、TUT1 の KA1 の機能についての先行研究をもとに VCR の機能解析を進め、VCR が RNA 結合ドメインとして働いて標的 RNA の m6A 修飾を促進することを明らかにしている。本論文では、METTL16 の標的 RNA である U6 snRNA と MAT2A mRNA の m6A 修飾部位付近の RNA 構造の違いから発想を得て、METTL16 は N 末端側のメチル基転移活性ドメインと C 末端側の VCR を協調的に用いて標的 RNA を m6A 修飾するという反応モデルを提唱している。具体的には、METTL16 と MAT2A mRNA の m6A 修飾部位の複合体結晶構造をもとに、U6 snRNA が METTL16 に認識されるための RNA2 次構造の推定モデルを構築している。本論文で構築したモデルをもとに各種変異体を作成して解析することで、METTL16 の VCR は TUT1 の KA1 と同様に U6 snRNA の ISL (Internal stem loop) に結合することを特定している。そして、構造生物学的な視点から生化学的な解析を進めることで、METTL16 による U6 snRNA の m6A

修飾反応モデルを明らかにしている。第五章では、本論文における研究成果と関連分野への波及効果について考察も含めて議論されている。本論文の特徴は、METTL16のVCRとTUT1のKA1の比較だけでなく、U6 snRNAとMAT2A mRNAの比較をすることにより着想を得て解析を進めたことである。その結果、METTL16は、VCRを用いてTUT1のKA1と同様の方法でU6 snRNAのISLに結合し、メチル化部位周辺に構造変化を引き起こすことを推察している。さらに、VCRによるU6 snRNAの構造変化により、MAT2A mRNAがm6A修飾を受けるために必要な特異構造である遷移領域が形成されることも考察している。先行研究で、METTL16は本論文で着目したVCR依存的にMAT2A mRNAのスプライシングを誘導することが報告されており、本論文で示されているVCRのRNA結合活性と疎水性表面が寄与している可能性について触れられている。そして、U6 snRNAのプロセッシングにおいて、METTL16のVCRとTUT1のKA1の類似性にどのような意義があるかについても議論されている。第六章では、本論文の執筆にあたり参考にした文献が記載されている。第七章では、本論文の執筆にあたり関与があった人物や団体についての謝辞が述べられている。以上より、本論文の内容は当該分野の理解を推し進めるだけでなく、他の研究分野への十分な波及効果が期待される。よって、本論文は博士（医科学）の学位請求論文として合格と認められる。

以上 1722 字