

## 別紙 2

### 審査結果の要旨

論文提出者氏名 宮ノ腰 美希

トリプトファン tRNA 合成酵素 (TrpRS) は、tRNA にトリプトファン (Trp) を付加するアミノアシル化反応を触媒する。本論文では、ヒトとマウスの TrpRS に着目し、それぞれの TrpRS の発現や機能制御機構について研究を進めた。

第一章では、ヒト TrpRS と細胞内への Trp 輸送の関連性の解明を目指した。ヒトでは、TrpRS の発現がサイトカインであるインターフェロン $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) によって著しく上昇するが、その意義は不明であった。IFN- $\gamma$  刺激を受けた細胞において、アミノ酸の中でも Trp の取り込みが活発になることに着目し、ヒト TrpRS が細胞内への Trp 輸送に関与していると仮説を立て、これを検証した。IFN- $\gamma$  処理細胞では、無処理の細胞と比較して、Trp の取り込み量が著しく上昇するが、siRNA を用いてヒト TrpRS の発現を抑制すると、Trp の取り込み量は減少した。一方、ヒト TrpRS を過剰発現させた細胞において、Trp の取り込み量の増加が見られた。即ち、ヒト TrpRS の発現量に応じて、細胞内への Trp の取り込み量が変化することが明らかになった。さらに、Trp と同時に TrpRS の阻害剤を添加すると、細胞内への Trp の取り込みが減少し、ヒト TrpRS が直接 Trp 輸送に関与することを発見した。また、ヒト TrpRS の基質結合部位の変異体解析から、ヒト TrpRS による Trp 輸送には、ヒト TrpRS の Trp 結合部位と ATP 結合部位が重要である一方で、tRNA の結合部位が重要でないことを実証した。また、これまでに、ヒト TrpRS が細胞外に分泌されることが報告されている。これらを踏まえると、IFN- $\gamma$  刺激により発現が上昇したヒト TrpRS の一部が細胞外へと分泌され、細胞外の Trp を結合し、細胞内へと輸送すると考えられる。

第二章では、マウスに特有な TrpRS に着目し、その発現と機能を解析した。マウス TrpRS では、他の生物種ではみられない alternative splicing が起こり、ヒト TrpRS に相当する full-length TrpRS (FL-TrpRS) に加え、FL-TrpRS の C 末

端に 6 つのアミノ酸が付加した型 (SV-TrpRS) が存在するが、この発現や機能は研究されていない。本論文では、まず、マウス ES 細胞、組織、胚におけるマウス FL-TrpRS、SV-TrpRS の発現解析を行った。その結果、マウス FL-TrpRS、SV-TrpRS はさまざまな組織において発現している一方で、脳組織では SV-TrpRS の発現が非常に低いことを明らかにした。また、培養細胞を用いた発現解析から、マウス FL-TrpRS、SV-TrpRS も、ヒト TrpRS と同様に IFN- $\gamma$  によって発現が上昇することを明らかにした。次に、マウス FL-TrpRS、SV-TrpRS のアミノアシル化活性を解析した。その結果、マウス SV-TrpRS のアミノアシル化活性が FL-TrpRS の 50%程度と低いことが明らかになった。また、変異体解析により、マウス SV-TrpRS のアミノアシル化活性の制御には、C 末端付加配列中のシステイン残基が重要であることを発見した。さらに、マウス SV-TrpRS のアミノアシル化活性が、ヒト TrpRS と同様に金属によって制御されている可能性が示唆された。

以上、本論文における研究は、IFN- $\gamma$  によって発現が上昇したヒト TrpRS が Trp トランスポーターとして細胞内への Trp 輸送に関与することを初めて発見したという点で評価できる。さらに、マウス特異的な SV-TrpRS が、さまざまな組織で発現している一方で、脳組織において発現量が非常に低いことや、IFN- $\gamma$  による発現誘導を受けること、アミノアシル化活性が低いことを明らかにし、ヒト以外の生物種の TrpRS の研究も前進させた。

したがって、本審査委員会は、博士（学術）の学位を授与するにふさわしいものと認定する。