

論文審査の結果の要旨

氏名 新沼 翔

本論文は4章からなり、真核生物の mRNA 分解経路の開始反応である poly(A) 鎖分解の中核を担う CCR4-NOT 複合体について、アデニン残基への特異性および ATP の要求性という 2 つの観点から詳細な生化学的解析を行い、その作動様式を明らかにしたものである。

まず、第 1 章では序論として、真核生物における mRNA 分解やその開始反応としての脱アデニル化、また主要な脱アデニル化酵素複合体である CCR4-NOT 複合体に関するこれまでの知見についての概論が記載されている。

第 2 章においては、microRNA が引き起こす脱アデニル化反応をモデルとして、poly(A)下流に存在する A 以外の配列を、CCR4-NOT 複合体に含まれる 2 つの脱アデニル化酵素 CCR4 と CAF1 がどのように認識し、どのように分解しているのかということについて、注意深い生化学的解析を行い、その作用様式を明らかにした。特に、精製した野生型及び変異型 CCR4/CAF1 ヘテロダイマーを用いた解析により、CCR4 と CAF1 がそれぞれ独立して poly(A)下流配列を除く活性を有していること、また、その活性は poly(A)下流配列とその上流の poly(A)配列との長さのバランスによって規定されていること、そして poly(A)下流配列の除去は CCR4 および CAF1 のエクソヌクレアーゼ活性によって行われていることが見いだされた。この知見は、CCR4-NOT 複合体がどのようにして poly(A) という特徴的な配列を認識しているのかという根本的な問題に対する大きな示唆を与えるものであるとともに、近年生体内で続々と見いだされている天然の poly(A)下流配列の役割や動態を理解する上で、重要な知見である。

第 3 章は、過去の報告において ATP の加水分解が必要であるとされていた microRNA による脱アデニル化反応を注意深く再検証したものである。過去の報告における結論は、クレアチンキナーゼおよびクレアチンリン酸による ATP 再生系においては microRNA による脱アデニル化反応が効率よく進行する一方で、ヘキソキナーゼとグルコースによって ATP を ADP に分解するとその反応が停止するという知見に基づいて得られたものであった。今回、脱アデニル化反応中の ATP、ADP、AMP の存在比を正確にトレースし、さらに 5'ヌクレオ

チダーゼを用いて AMP をアデニンとリン酸へと分解すると操作を行った結果、ATP 非存在下であっても AMP が除かれれば脱アデニル化反応は効率よく進行することが明らかとなった。すなわち、microRNA を介した脱アデニル化反応そのものには ATP は不要であり、過去の報告において ATP を分解した際に脱アデニル化反応が起こらなかった原因は、ATP の枯渇ではなく AMP の過剰な蓄積であったということが結論づけられた。また、同じく脱アデニル化反応に ATP が必要で無いという結論は、ショウジョウバエの胚発生において一群の母性 mRNA を分解することによって接合子期への遷移を促進する RNA 結合タンパク質である Smaug による脱アデニル化反応についても得られた。この知見は、これまで汎用的に用いられてきた ATP 除去系の利用についての注意を喚起するものであると同時に、microRNA や Smaug による脱アデニル化反応の過去のモデルを大きく覆すものであり、mRNA 分解を誘導する一群の RNA タンパク質に普遍的なものである可能性も考えられる。

第 4 章では、これまでに報告されている mRNA の分解制御についての様々な知見に基づき、今回見いだされた結果について、様々な観点から総合的な考察が述べられている。

本研究は真核生物の mRNA 分解の中核を担う脱アデニル化反応の分子レベルでの理解に大きな進展をもたらすものであり、高く評価できる。したがって、博士（科学）の学位を授与できると認める。

以上 1,607 字