

審査の結果の要旨

氏名 白 昞玖

20 塩基程度の小分子 RNA は、内在遺伝子発現を制御するだけでなく、ウイルスやトランスポゾンと言った非自己核酸を抑制する。この RNA サイレンシングと呼ばれる機構は、1. 長鎖二本鎖 RNA が Dicer と呼ばれるヌクレアーゼによって小分子 RNA にプロセシングされる過程、2. 小分子 RNA が Argonaute (AGO) タンパク質と結合し RNA-induced silencing complex (RISC) と呼ばれる機能複合体を形成する過程、3. RISC に取り込まれている小分子 RNA と相補性を持つ mRNA と結合し、その mRNA を切断、不安定化、または翻訳抑制する過程、の3つに大別できる。一方で、植物、真菌、一部の動物は、上記の基本過程に加えて、RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ (RDR) によって、一本鎖 RNA を Dicer の基質である二本鎖 RNA に変換し、RNA サイレンシングを起動、増強する機構を有することが知られている。

本論文は、RDR が、どのような選択性をもって鋳型 RNA を決定するのかという大きな疑問に対し、シロイヌナズナの RDR6 をモデルとして、その鋳型特異性に関する研究成果をまとめたものである。本論文は4章からなり、第1章は典型的な RNA サイレンシング機構、および RDR6 を介した RNA サイレンシング機構についての序論である。研究結果は第2章と第3章に記述されており、第2章は RDR6 の鋳型特異性、第3章は特定の内在 mRNA を RDR6 が効率良く二本鎖化し RNA サイレンシングを発動する機構について述べられている。第4章は全体を通じた総合討論である。

第2章では、なぜ RDR6 は多くの内在の mRNA は二本鎖化せず、外来の mRNA を特異的に二本鎖化し RNA サイレンシングを発動するのか、という問題に取り組んだ。論文提出者は「外来の mRNA には 3' poly(A)鎖を欠いている異常な RNA が含まれる」という過去の報告に着目し、RDR6 が poly(A) 鎖を欠いた RNA のみを二本鎖化するのではないかという仮説を立てた。ショウジョウバエ培養細胞で発現・精製したリコンビナント RDR6 を用いた試験管内相補鎖合成アッセイと、二本鎖 RNA を特異的に検出するための一本鎖 RNA 特異的 RNase 処理を組み合わせることにより、RDR6 は poly(A) 鎖を欠いた RNA のみを鋳型にできるという仮説を実験的に立証した。

第3章では、RDR6 を介した内在小分子 RNA (tasiRNA) 生合成経路を細胞抽出液内で再現できる新規試験管内アッセイ系を構築し、RDR6 が、特定の内在 mRNA (TAS RNA) を効率よく二本鎖 RNA に変換する機構を解析した。

遺伝学でこれまでに本経路に必要なことが明らかにされていた、特殊な RISC および補助タンパク質を、試験管内翻訳によって過剰発現することが、試験管内での tasiRNA 合成に必要なことを明らかにした。また、Dicer 活性を阻害する機能をもつ、昆虫ウイルスのサイレンシングサプレッサーを系に加えることにより、二本鎖 RNA を効率良く検出できる工夫をし、RDR6 による TAS RNA の二本鎖化活性を直接検出する実験系を作出した。これらの系を用いることで、RDR6 による TAS RNA の効率の良い二本鎖化には、1. 特殊な RISC の結合、2. 補助タンパク質の存在、3. TAS3 RNA の poly(A) 鎖を含む領域が RISC によって切断され、RDR6 が好む非 poly(A)配列が露出することが必要であることを明らかにした。

なお、本論文第 2 章および第 3 章は岩川 弘宙 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(科学)の学位を授与できると認める。

以上 1579 字