

論文審査の結果の要旨

氏名 兼松 宗太郎

本論文では、RIP-miRNASeq および RIP-mRNA Seq に、さらに small RNA Seq, mRNA Seq および polysome Seq といった複数のライブラリーから得られた情報を統合して、miRNA の機能推定をおこなっていた。RIP (RNA immunoprecipitation)法を用いることにより Ago1 および Ago2 に結合する miRNA と mRNA を同時に同定するという手法は評価できる。筆者は、まず、RIP 法自体の検証として、第 3 章において、western blot 解析、real time PCR 解析等を用いて検証しておりこの手法の評価を行っている。本論文の骨子は第 4 章に記載されているように、miRNA の多くは Ago1 および Ago2 に共通して結合するにも関わらず多くの mRNA は Ago1、もしくは Ago2 との結合に偏りが存在するという点である。本論文ではこの結果の検証として、第 5 章で、一次配列の特異性、配列の保存性、および熱力学的検証を加え、丁寧に検証を行っている。この結果、Ago1 と Ago2 間の標的 mRNA 間の相違は 1 次配列に起因するのではなく、他の RNA 結合たんぱく質等の関与の可能性があると筆者は考えている。近年 Kedde らは RNA 結合タンパク質である pumilio が p27mRNA の 3'UTR に結合することにより、miRNA の 3'UTR 配列へのアクセスを抑制するという報告をしており本論文の結果から更なる知見が得られる可能性があると考え。結論として、RIP 法と Target Scan を組み合わせることにより、従来の in silico 解析と比較して数十倍ほどに miRNA-mRNA ペアを絞り込むことが可能であり、大変興味深い。更に、第 6 章以降では、外的刺激存在下における miRNA-mRNA ペアの挙動についても検討を試みており、この結果を polysome Seq を持ちいて検証している。Polysome Seq の結果の検証には更なる検討が必要であるが、この検証法は網羅的解析に適している可能性が示唆された。また、本論文で同定した miRNA-mRNA の中にはがん関連性の miRNA および mRNA が多く含まれており今回蓄積されたデータを利用することにより、miRNA によるがんというシステム解明の一助になる可能性が示唆された。最終章では、これらの総括を行っている。RIP 法は標的転写産物の同定には有効ではあるが、CLIP 法のように結合部位を同定することは出来ない。RIP 法により同定された miRNA の標的 mRNA は、miRNA-mRNA 結合の総体を観察しており、この点の更なる検証が必要であるが、自ら新しい視点のもと研究を進めてきた姿勢は評価出来る。

なお、本論文は谷本幸介、鈴木穰、菅野純夫との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及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（生命科学）の学位を授与できると認める。