

論文審査の結果の要旨

氏名 吉川 真由

本論文は Argonaute ファミリーに属し、生体内の様々な生命現象を綿密に制御する PIWI タンパク質と AGO タンパク質において、それぞれが認識する標的 RNA の特定の場所に位置する塩基に選択性があることを生化学的に解析した研究成果をまとめたものである。本論文は 6 章からなり、第 1 章は PIWI タンパク質の制御機構や生化学的特徴、結合する小分子 RNA の生成過程等に関する現在までの研究成果を AGO タンパク質と比較する形で述べた序論である。第 2 章では、PIWI タンパク質と AGO タンパク質のそれぞれについて、標的 RNA の切断を行った際に観察される塩基の選択性に関する研究成果が記述されている。その後、第 3 章で全体を通した総合討論、第 4 章は材料と方法、第 5 章は謝辞、第 6 章は参考文献という形で締めくくられている。

第 2 章 1 節では、まず、AGO タンパク質であるヒト Ago2 を用いた標的 RNA の切断実験によって、結合する小分子 RNA の一塩基目に関わらず、その向かい側に位置する標的 RNA の塩基 (t1) が A である標的 RNA の切断効率が U、G、C であるものよりも顕著に高いことを生化学的に示した。この t1A の選択性に

関しては、以前よりバイオインフォマティクス解析により示唆されていたが、生化学的に解析したのは今回が初めてである。続いて 2 節では、カイコに発現する二種類の PIWI タンパク質である Siwi と BmAgo3 を用いた標的 RNA の切断アッセイ系を確立し、さらにその系を用いた切断実験によって、Siwi にはヒト Ago2 と同様に結合する piRNA の一塩基目に関わらず t1A の標的 RNA を優先的に切断する性質がある一方、BmAgo3 にはそのような性質が無いことを示した。また 3 節では、共同研究先の Phillip D. Zamore 博士らによるバイオインフォマティクス解析から導かれた結論が、2 節で観察された結果と矛盾しないことに触れている。PIWI タンパク質の生合成過程は一次生成過程と増幅過程である「ピンポンサイクル」の二種類が存在することが知られている。ピンポンサイクルでは、まず、Siwi に結合した piRNA と相補的な標的 RNA が切断されることにより、BmAgo3 に結合する piRNA が生成される。さらに、BmAgo3 に結合する piRNA と相補的な標的 RNA が切断されることにより Siwi に結合する piRNA が増幅される。現在までに PIWI タンパク質に関する t1A の選択性の違いを指摘した研究成果は存在しなかったが、本研究によって、t1A 塩基の選択的が PIWI タンパク質により異なり、標的 RNA の認識や切断、ピンポンサイクルでの piRNA の生合成に重要な意味を果たしている可能性が示されたと言える。2 章 4 節から 7 節と 12 節においては、観察された t1A の選択性が AGO タンパ

ク質や PIWI タンパク質そのものの性質であるのか、あるいは他の因子を必要とする性質であるのかどうかを検証すべく、今回確立されたアッセイ系を利用し、詳細に解析されている。最終的には、観察される t1A の選択性にはヒト Ago2 や Siwi タンパク質単独では不十分であり、細胞破碎液中の未知のタンパク質因子が必要であることが示唆された。8 節から 11 節にかけて、t1A の選択性を生み出すタンパク質因子の同定を目指し、確立したアッセイ系を用いて行った解析結果が示されている。本研究では最終的に t1A を生み出す因子を同定するには至らなかったが、古典的なゲルろ過クロマトグラフィーを用いて細胞ライセートを分画した試行錯誤などが示され、分画により因子の同定を行うことに対する可能性が示された。

以上のように、本研究はこれまでに生化学的な検証が行われて来なかった AGO タンパク質や PIWI タンパク質の標的 t1 塩基の選択性に関して、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ある。

したがって、博士（生命科学）の学位を授与できると認める。

以上 1642 字