

論文審査の結果の要旨

氏名 寺坂尚紘

mRNA からタンパク質が翻訳される際に tRNA はアミノアシル tRNA 合成酵素 (ARS) によってアミノアシル化され、アダプター分子として働く。tRNA は対応するアミノ酸ごとに異なる配列を持つが、3'末端は全ての tRNA において CCA-3'として保存されている。また、200 塩基以下の small RNA 中のおよそ 90%は tRNA であり、tRNA 以外の small RNA 解析の為に多種の tRNA を簡便に除く方法が求められている。一方で、tRNA の CCA 末端は翻訳に際してリボソームと塩基対を形成しており、CCA 末端に変異があるアミノアシル tRNA を調製すれば、新たな改変翻訳系の構築につながることが期待される。本博士論文では tRNA の CCA 末端を塩基対合によって認識するアミノアシル化リボザイムを用いることで、上記の二つの点を達成するという独自性の高い研究を行っている。

本論文は 4 章からなる。第 1 章は序論であり、tRNA の生体内での役割、tRNA 以外の small RNA として主に miRNA について概説している。また CCA 末端を塩基対合によって認識するアミノアシル化リボザイムである、フレキシザイムの背景およびその特長についても述べられている。

第 2 章では葉酸に結合するヒト miRNA 前駆体の探索について報告している。寺坂氏は修士課程の研究において、フレキシザイムを用いて small RNA 中の多種の tRNA をビオチン化アミノ酸で同時にアミノアシル化し、tRNA を除いた small RNA ライブラリーの構築に成功している。更に SELEX 法を用いてこのライブラリーから葉酸に結合する三種類の RNA を得た。博士課程においてこれらの RNA と葉酸の結合解析を行った。その結果、三種類の RNA の内 pre-miR125a が葉酸に結合することを発見した。さらに変異体解析によって pre-miR125a の葉酸結合部位を同定した。葉酸のような小分子と miRNA 前駆体の相互作用は世界で初めての報告となる。また、small RNA ライブラリーを SELEX 法に用いることの有用性についても述べられている。

第 3 章では変異リボソーム・tRNA ペアによる、生体直交性翻訳系について報告している。これまで、直交性 ARS・tRNA ペアやリボソーム・tRNA ペアの構築といった翻訳系の改変によって、様々な非天然アミノ酸が翻訳に用いる

ことが可能になった。これらに加えて新しい改変翻訳系の概念として、直交性リボソーム・tRNA ペアを提唱し、その構築に挑んでいる。この改変翻訳系を構築するために、CCA 末端に変異を導入した tRNA をアミノアシル化することを、3'末端に変異を入れたフレキシザイムを用いることで可能にした。また様々な変異 tRNA と変異リボソームの組み合わせの翻訳活性を評価し、天然の翻訳系と直交性を持つ改変翻訳系を見出した。最終的に天然と直交性翻訳系を用いることで、二種類のペプチドを一種類の mRNA から翻訳できることを示した。この研究は新しい改変翻訳系を構築したばかりでなく、tRNA の CCA 末端の翻訳系における役割も示した研究であり、応用・基礎の両面において非常に重要な成果である。

第 4 章は結論であり、研究全体のまとめと将来の展望について述べている。これまでフレキシザイムは非天然アミノ酸の翻訳系への導入に用いられてきた。本博士論文では、フレキシザイムの多方面への更なる応用性を示し、更に小分子と miRNA 前駆体の相互作用の発見、直交性翻訳系の構築という基礎と応用面の両方で大きな成果を挙げた。特定の末端配列を持つ RNA をアミノアシル化できる方法は、特定の RNA を除くだけではなく、回収することも可能になるので、未知の機能性 RNA の発見への応用が期待される。また直交性翻訳系を細胞内に導入できれば、細胞の生育に必要な天然翻訳系とは独立して非天然アミノ酸含有タンパク質を翻訳することが可能になり、高効率な非天然アミノ酸含有タンパク質の生産につながることを期待される。

尚、本論文第 3 章は林剛介博士・加藤敬行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。

以上のことより、本審査会委員は総意のもと、寺坂尚紘氏の学位請求論文は博士（理学）の学位授与に十分資すると認め、合格の判定を下した。