

審査の結果の要旨

氏名 岡田俊平

本研究は RNA の転写後修飾の一つである A-to-I RNA エディティングがヒト mRNA 3'非翻訳領域(3' UTR)において集積する分子機構の解明や遺伝子発現に与える影響の解析を行ったものである。

ゲノムから転写された mRNA は成熟 mRNA へのプロセッシング過程で遺伝子発現制御に関わる様々な塩基修飾を受ける。A-to-I RNA エディティングは後生動物に広く見られる転写後修飾の一つで Adenosine Deaminase Acting on RNA (ADAR)と呼ばれる修飾酵素により二本鎖 RNA 領域内のアデノシン(A)が脱アミノ化され、グアノシン(G)と化学構造が類似したイノシン(I)へと修飾される反応である。当研究室による RNA エディティング部位の網羅的探索の結果、ヒト成人脳 RNA 内に約 30,000 箇所の大量のイノシン化部位が同定され、その大半は short interspersed nuclear element (SINE)の一種であり、約 300 塩基長の *Alu* 反復配列上にクラスターとして見出されることが判明した。*Alu* 反復配列はしばしば、mRNA の 3'UTR にセンス方向や、アンチセンス方向で挿入されており、これらが互いに塩基対合を形成することで、*Alu* 配列ペアによる長い二本鎖構造が形成される。この長い二本鎖構造がしばしば ADAR の標的となり、RNA エディティングを受けてイノシン化部位が集積すると考えられている。しかし、その詳細なメカニズムや機能的側面についてはほとんど明らかにされていない。そこで論文提出者は 3'UTR におけるイノシンクラスター形成メカニズムの解明と機能解析を目的に据えて研究を行っている。

まず本論第一章では RNA エディティング部位を細胞内での RNA 二次構造形成の痕跡と捉えることで mRNA 1分子レベルの RNA エディティングパターンの形成と RNA 二次構造の関連について解析を行っている。題材としてヒト培養細胞で高頻度の RNA エディティングが観察される FOXRED2 3'UTR のイノシンクラスターを選んだ。この遺伝子の 3'UTR には、2つのセンス鎖方向の *Alu* 配列 (*Alu1*, *Alu2*)と1つのアンチセンス鎖報告の *Alu* 配列(*Alu3*)を含み、これらの配列上に高頻度でイノシンクラスターが形成されている。mRNA 1分子ごとの RNA エディティングパターンを解析すると興味深いことに、アンチセンス鎖の *Alu* 配列が1つのみであるにも関わらず、2つのセンス鎖の *Alu* 配列上に同時にイノシンクラスターを有するパターンが大部分を占めていることが判明

した。さらにこのパターンを生成する RNA の二次構造の解析を行った結果、*Alu1-Alu2* ペア、もしくは *Alu2-Alu3* ペアで塩基対合した 2 通りの RNA 二次構造が相互に組替わりながら動的に構造変化する可能性を示唆する結果を得た。

次に、第二章では二本鎖 RNA の動的構造変化を促進する因子の探索を行った。論文提出者は二本鎖 RNA を一本鎖 RNA に解く活性(unwinding 活性)を有する RNA ヘリケースの関与を予測した。FOXRED2 3'UTR の RNA エディティングの責任酵素は ADAR1 であることを確認しているため、ADAR1 と核内における相互作用が報告されている UPF1 と RHA の 2 つの核内 RNA ヘリケースを候補に挙げ、解析を行った。各々の遺伝子をノックダウンした際に mRNA 1 分子ごとの RNA エディティングパターンを解析した結果、二本鎖 RNA の組替えを示す *Alu1*, と *Alu2* に同時にイノシンクラスターが形成されるパターンの割合の減少が観察された。以上の結果は核内 RNA ヘリケースである UPF1 と RHA が二本鎖 RNA の動的な構造変化の促進に関与することを示唆している。

第三章では RNA エディティング形成時における UPF1 の unwinding 活性の関与を生化学的手法を用いて調べている。モデル基質二本鎖 RNA を用いた *in vitro* での ADAR1 による RNA エディティング反応中に UPF1 を添加すると ATP 依存的に RNA エディティングの阻害が観察され、その際に二本鎖 RNA が一本鎖 RNA へ解かれていることを確認した。この結果は FOXRED2 3'UTR においても UPF1 が unwinding 活性を用いて二本鎖 RNA の構造変化を促し、イノシン化部位形成を制御している可能性が示唆される。

最後に第四章では 3'UTR における RNA エディティングが mRNA の翻訳抑制に関わる miRNA のターゲット配列認識に与える影響を情報科学的手法により予測している。その結果、約 12,000 ペアの miRNA-ターゲット配列間の塩基対合が RNA エディティングによって制御される可能性があることを示された。3'UTR における RNA エディティングは遺伝子発現に大きな影響を及ぼすことが示唆される。また予測された候補は FOXRED2 3'UTR のイノシンクラスター内にも存在したため、UPF1 や RHA によるイノシンクラスター形成の制御の機能について考察を加えている。

以上の成果から論文提出者は核内 RNA ヘリケースが二本鎖 RNA の動的な構造変化を促進し、A-to-I RNA エディティングのパターン形成を制御するという新しい概念を提示した。

以上の研究は論文提出者が主体となって行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。よって本論文は博士（工学）の学位請求論文として合格と認められる。