

氏名 渡邊 常義

## 主論文審査の要旨

ヒトを含む真核生物の細胞は、遺伝情報が納められている核とタンパク質合成の場である細胞質とが核膜によって空間的に隔てられている。そのため、核内で転写されたタンパク質情報をコードする mRNA が翻訳されるためには、スプライシングなどのプロセシング反応を受けて成熟化し、その後核膜孔を通過して細胞質へと核外輸送されなければならない。従って、mRNA の核外輸送は真核生物の遺伝子発現において必須の過程であるが、その詳細な分子機構には未だ不明な点が多く残されている。

本研究では、mRNA の核外輸送機構を解明するために、制限温度下で mRNA が核に蓄積する分裂酵母の *ptr* [poly(A)<sup>+</sup> RNA transport] 変異株 11 株のうち、*ptr5* 変異株について解析を行った。

*ptr5* 変異株は核膜孔複合体を構成する因子 Nup85p をコードする遺伝子にアミノ酸置換型の点突然変異を持つ。制限温度である 35°C 以上の温度条件で培養を行うと、迅速に核内に mRNA を蓄積させることから、Ptr5 タンパク質 (Ptr5p) は mRNA 核外輸送過程に直接的に関与している可能性が考えられた。Ptr5p の mRNA 核外輸送における機能を明らかにするため、Ptr5p と相互作用する因子の探索を行ったところ、Ptr5p と mRNA 核外輸送因子 Rae1p の間に機能的な相互作用があることが示された。次に *ptr5* 変異株の温度感受性を相補するマルチコピーサブレッサーの同定を試みたところ、mRNA 核外輸送複合体に含まれる RNA 結合タンパク質 Mlo3p、転写と mRNA 核外輸送とを連携する TREX2

複合体に含まれる Sac3p、及び核膜孔複合体構成因子 Seh1p が同定され、これらのタンパク質因子が Ptr5p を介した mRNA 核外輸送に関与している可能性が示された。

Seh1p は Nup85p と結合し核膜孔複体内で Nup107-120 subcomplex を形成していることが報告されているが、mRNA 核外輸送における機能はよく分かっていない。そこで、*seh1<sup>+</sup>* 遺伝子の欠失株を作成しその表現型を解析した。*ptr5* 変異株において *seh1<sup>+</sup>* 遺伝子を欠失させると致死となることが明らかとなった。次に、Seh1-GFP 融合タンパク質を用いた FRAP (Fluorescence Recovery After Photobleaching) 解析を行った結果、Seh1p が核膜孔複体に結合と解離を迅速に繰り返す因子であることが示された。

近年、核内での様々な mRNA 成熟化反応が連携して行われていることが明らかになりつつある。mRNA 核外輸送とスプライシング反応との関連を解析するために、*ptr5* 変異株と分裂酵母スプライシング変異株 (pre-mRNA processing: *prp*) を用いた解析を行った。その結果、Ptr5p と複数のスプライシング因子との間に機能的相互作用があることが明らかとなり、核膜孔複体がスプライシングを始めとする核内の mRNA 成熟化反応の足場になっていることが示唆された。

以上の研究内容は、査読付き国際学術専門誌 (*BBRC*) に掲載された。また、国際学会と国内学会で学術講演を行い高い評価を得ている。本研究はノーベル賞受賞者 Günter Blobel が 1985 年に提唱した Gene gating 仮説の実験的証拠を見いだした先駆的研究であり、mRNA 核外輸送機構の解明を介して、生命科学の進展に大きく貢献することが期待される。よって、本審査委員会は本論文が博士 (理学) の学位を授与すべき内容を有するものと判断した。

#### 最終試験の結果の要旨

本審査委員会は、学位論文提出者に対して当該論文の内容及び関連分野全般について諮問を行った。その結果、学位論文提出者は当該分野及び周辺領域について十分な知識と総合的理解力を有していると判断された。また、国際誌への筆頭著者英文論文の公表、国際学会で発表実績などから、十分な英語能力があるものと認めた。学位論文提出者は筆頭著者での査読付き国際誌への論文発表など、生命科学講座の学位授与基準を全て満たしている。以上の結果に基づき、審査委員会は最終試験を合格とした。

審査委員 理学専攻生命科学講座

教授 谷 時雄

審査委員 理学専攻生命科学講座

教授 高宗 和史

審査委員 複合新領域科学専攻複合新領域科学講座

教授 斉藤 寿仁