

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	RNA ポリメラーゼII転写産物の3'末端プロセッシング経路の運命決定機構に関する研究
Title(English)	
著者(和文)	山本淳一
Author(English)	Junichi Yamamoto
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第9610号, 授与年月日:2014年9月25日, 学位の種類:課程博士, 審査員:山口 雄輝,工藤 明,徳永 万喜洋,十川 久美子,立花 和則
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第9610号, Conferred date:2014/9/25, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

論文審査の要旨及び審査員

(2000字程度)

報告番号	乙 第 号	学位申請者	山本 淳一	
論文審査員	氏 名	職 名	氏 名	職 名
	主査 山口 雄輝	教授	立花 和則	准教授
	工藤 明	教授		
	徳永 万喜洋	教授		
	十川 久美子	准教授		

本論文は「RNAポリメラーゼII転写産物の3'末端プロセッシング経路の運命決定機構に関する研究」と題し、RNAポリメラーゼII転写産物が受ける3'末端プロセッシングの経路選択に転写伸長因子NELFが関与していることを明らかにしたものであり、6章から構成されている。

第一章「序論」では、本研究の背景が述べられている。高等真核生物のRNAポリメラーゼII転写産物が受ける3'末端プロセッシングには3種類の経路が存在し、大部分の遺伝子はポリ(A)付加を伴う経路によって3'末端プロセッシングを受けるが、ヒストン遺伝子とsnRNA遺伝子はポリ(A)付加を受けず、遺伝子特異的な3'末端プロセッシングを受けることが述べられている。また、ヒストン遺伝子の3'末端プロセッシング経路に転写伸長因子NELFが重要な役割を果たしていることを示した先行研究が紹介されている。

第二章「DSIFとNELFの相互作用因子の探索」では、FLAGタグを付加したDSIFもしくはNELFのサブユニットを恒常的に発現するHeLa細胞株から調製した核抽出液を用いて、アフィニティー精製と質量分析を行い、DSIFとNELFの共通の相互作用因子としてIntegratorが同定されたことが述べられている。さらに詳細な生化学的解析の結果、DSIFとNELFはIntegratorと直接結合し、細胞内でRNAポリメラーゼIIを含む巨大なタンパク質複合体を形成していることが示されている。

第三章「snRNAの転写と3'末端プロセッシングにおけるDSIFとNELFの役割」では、Integratorの既知の機能であるsnRNAの3'末端プロセッシング反応を中心に、DSIFとNELFの機能解析が行なわれている。RNAiによるノックダウンと定量RT-PCRの結果から、NELFのノックダウンはIntegratorのノックダウンと同様にsnRNAのプロセッシング異常を引き起こすことが示されている。一方、*in vivo* RNA標識実験や*in vitro*転写実験を通じて、DSIFはsnRNAの転写自体に重要な役割を果たしていることが示唆されたことが述べられている。

第四章「U1遺伝子上におけるDSIF、NELF、Integrator、P-TEFbの相互作用」では、クロマチン免疫沈降法(ChIP)によって、様々な転写因子のU1 snRNA遺伝子上での動態が詳細に解析されている。先行研究からNELFは多数の遺伝子の5'領域に局在していることが示されていたが、U1 snRNA遺伝子では遺伝子の3'領域にもNELFの結合が確認されたことが述べられている。また、NELFやIntegratorのノックダウンならびにP-TEFbの阻害によって、転写終結の阻害が誘導されたことが述べられている。さらに、第三章の結果と一致して、DSIFのノックダウンはU1 snRNA遺伝子におけるRNAポリメラーゼIIの結合量の減少を引き起こすことが示されている。

第五章「NELFによる3'末端プロセッシングの制御機構」では、NELFがsnRNA遺伝子の3'末端プロセッシングを制御する分子メカニズムを検証している。NELFのノックダウンはsnRNAの正常なプロセッシングを阻害するだけでなく、異常なポリ(A)付加を引き起こすことが示されている。また、この異常なポリ(A)付加には一般的なポリ(A)付加装置であるCPSFやCstFが関与していることが示されている。さらに、ChIP解析の結果、NELFはU1 snRNA遺伝子上にCstFがやってくるのを妨げる働きをしていることが示唆されている。

第六章「考察と結論」では、第五章までに得られた結果を踏まえて、DSIFとNELFがsnRNA遺伝子の転写や3'末端プロセッシングに果たす役割に関するモデルを提唱している。また、なぜヒストン遺伝子やsnRNA遺伝子ではそれぞれの遺伝子に特異的な3'末端プロセッシング経路が選択されるのか、という運命決定にNELFが重要な役割を果たしていることを指摘し、その分子メカニズムを考察している。

以上を要するに、本論文は転写伸長因子DSIFとNELFの相互作用因子としてIntegratorを同定し、DSIFとNELFがsnRNA遺伝子の転写と3'末端プロセッシングにおいて重要な役割を果たしていることを明らかにしたものである。さらに、RNAポリメラーゼIIが3種類の3'末端プロセッシング経路のうちどの経路を選択するかという運命決定において、NELFが重要な役割を果たしていることを明らかにしたものであり、理学上貢献するところが大きい。よって、本論文は博士(理学)の学位論文として十分な価値があるものと認められる。