

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	RNAポリメラーゼ共通サブユニットRPB6と基本転写因子TFIIHの相互作用の構造機能解析
Title(English)	
著者(和文)	諏訪哲史
Author(English)	Tetsufumi Suwa
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11720号, 授与年月日:2022年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:山口 雄輝,徳永 万喜洋,木村 宏,相澤 康則,白木 伸明
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第11720号, Conferred date:2022/3/26, 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

(博士課程)

論文審査の要旨及び審査員

報告番号	甲第	号	学位申請者氏名	諏訪	哲史
論文審査 審査員		氏名	職名	氏名	職名
	主査	山口 雄輝	教授	白木 伸明	准教授
	審査員	徳永 万喜洋	教授		
		木村 宏	教授		
相澤 康則		准教授			

論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は「RNA ポリメラーゼ共通サブユニット RPB6 と基本転写因子 TFIIH の相互作用の構造機能解析」と題し、RPB6 と TFIIH の相互作用が細胞増殖と全 RNA ポリメラーゼ (RNAP) の転写反応ならびに RNAPI と RNAPII の転写共役型ヌクレオチド除去修復 (NER) に重要であることを明らかにしたものであり、6 章より構成されている。

第 1 章「序論」では、本研究の背景と目的が述べられている。真核生物の全 RNAP に共通するサブユニットである RPB6 には、その N 末端に機能未知の天然変性領域が存在していることが述べられている。また、基本転写因子であり、NER にも重要な因子である TFIIH のサブユニット p62 には Pleckstrin homology ドメイン (PH-D) が存在し、様々な因子の天然変性領域と相互作用することで多様な機能を発揮していることが述べられている。さらに、この p62 PH-D に相互作用する既知因子とのアミノ酸配列の相同性から RPB6 が p62 PH-D の新規相互作用因子の候補として浮上したことや、両者の相互作用の NMR 解析の結果が示されている。その上で、RPB6-TFIIH 相互作用の機能的意義が不明であることから、その解明を本研究の目的としたことが説明されている。

第 2 章「RPB6-TFIIH の相互作用と細胞増殖」では、TFIIH との結合能が低下または欠損した変異型 RPB6 あるいは野生型 RPB6 を発現させ、内在の RPB6 をノックダウンした HeLa 細胞 (野生型 RPB6 発現細胞ならびに変異型 RPB6 発現細胞) の作製と、その増殖速度の比較実験について述べられている。比較実験の結果として、RPB6 の天然変性領域以外のコアドメインが細胞の生存に重要であること、そして RPB6-TFIIH の相互作用が細胞の最適な増殖に重要であることが示されている。

第 3 章「RPB6-TFIIH の相互作用と転写反応」では、野生型 RPB6 発現細胞と変異型 RPB6 発現細胞における RNAPI、RNAPII、RNAPIII の転写産物量の比較実験について述べられている。比較実験の結果として、RPB6-TFIIH 相互作用がすべての RNAP の転写反応に重要であることが示されている。

第 4 章「RPB6-TFIIH の相互作用と NER」では野生型及び変異型 RPB6 発現細胞における NER 活性の比較実験について述べられている。NER によって修復される損傷を引き起こす変異原に対する耐性の比較実験から、RPB6-TFIIH 相互作用が NER に重要であることが示唆されている。続いて、RPB6-TFIIH 相互作用が全ゲノム NER と転写共役型 NER、それぞれの経路に関与しているのか明らかにするため、全ゲノム NER 活性を Unscheduled DNA Synthesis で、転写共役型 NER 活性を Recovery of RNA Synthesis で評価し、比較した実験について述べられている。その結果、RPB6-TFIIH の相互作用が全ゲノム NER に必須ではないが、転写共役型 NER には重要であることが示されている。さらに、3 種類の RNAP を区別して転写共役型 NER 活性を評価した実験から、RPB6-TFIIH 相互作用が RNAPI と RNAPII の転写共役型 NER に重要であることが示されている。

第 5 章「変異型 RPB6 発現細胞で見られた表現型の変化の因果関係」では、第 2 章から第 4 章で観察された変異型 RPB6 発現細胞における表現型変化 (増殖速度の変化、転写産物量の変化、NER の機能欠損) の間の因果関係を調べた実験について述べられている。その結果として、変異型 RPB6 発現細胞における RNAPII と RNAPIII の転写産物量の変化と、NER の機能欠損が増殖遅延の一因である可能性が示されている。さらに、転写反応の変化と NER の機能欠損はお互いに影響していないことも示されている。

第 6 章「まとめと考察」では、第 5 章までに得られた結果を整理した上で、先行研究の結果を踏まえた考察が行われている。例えば、RPB6-TFIIH 相互作用がどのように転写反応と転写共役型 NER に関与しているのかといった問いに対し、先行研究の結果を踏まえて反応メカニズムのモデルを構築し、議論が行われている。

以上を要するに、本論文は RNAP 共通サブユニット RPB6 と基本転写因子 TFIIH の相互作用が細胞増殖と全 RNAP の転写反応、RNAPI と RNAPII の転写共役型 NER に重要であることを明らかにしたものである。これらの結果は、転写と転写共役型 NER に関するこれまでの研究を大きく前進させるものであり、理学的に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。

注意: 「論文審査の要旨及び審査員」は、東工大リサーチポジトリ (T2R2) にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。