

主論文審査の要旨

真核生物の遺伝子は、タンパク質に翻訳される遺伝情報をもつエクソン配列がタンパク質には翻訳されないイントロン配列によって分断されている。遺伝子から転写された mRNA 前駆体からイントロン配列を除去する過程は、mRNA 前駆体スプライシングと呼ばれている。

本研究では分裂酵母 *Schizosaccharomyces pombe* のスプライシング変異株 *prp13-1* について解析を行った。分裂酵母は単細胞真核生物で世代時間が短く、一倍体で生育するため遺伝学的解析が容易であるだけでなく、ゲノムプロジェクトが終了しているため遺伝子の同定が容易であるなど、スプライシングの研究を行う上で非常に優れたモデル生物である。

prp13-1 変異株は、33°C以上の温度では生育できない温度感受性を示し、スプライシング反応に必須な U4 snRNA の 5' stem-loop 領域に一塩基の変異を有している。この領域には Snu13p が結合することがヒトや出芽酵母で知られているため、U4 snRNA と Snu13p との結合について解析を行った結果、*prp13-1* 変異株においては、U4 snRNA と Snu13p との結合が野生型株に比べて低下していることが示された。

prp13-1 変異株は、スプライシング変異株であるが、微小管重合阻害剤である Thiabendazole に対して高感受性を示し、さらに染色体分配が異常な細胞で M 期において生じる lagging chromosome が高頻度で観察された。この表現型の原因を調べた結果、*prp13-1* 変異株ではセントロメア領域のヘテロクロマチン形成が異常であることが明らかとなった。さらに他のスプライシング変異株のいくつかもヘテロクロマチン形成に異常を示した。

分裂酵母において、セントロメア領域のヘテロクロマチンは、セントロメアから転写される non-coding RNA から siRNA が生成され、RNA interference (RNAi) 機構を介して形成される事が知られている。*prp13-1* 変異株において RNAi 関連因子の pre-mRNA のスプライシングに阻害は検出できず、スプライシング変異株が示すセントロメア領域のヘテロクロマチン化の異常という表現型は、スプライシング阻害による二次的影響ではなく、スプライシング因子の変異が直接的に関与している可能性が示唆された。さらに、免疫沈降実験により、スプライシング因子 Prp14 が RNAi 関連因子である Cid12p と相互作用する事が示された。

また、セントロメア領域から転写される non-coding RNA が mRNA タイプのイントロン配列を含んでおり、実際にスプライシングを受ける事を新たに発見した。現在までに解析した結果に基づき、スプライシング因子がイントロン配列の認識を介し

てセントロメア non-coding RNA 上へと集合し、さらに、それらのスプライシング因子と Cid12p との相互作用によって RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ複合体がセントロメア領域へ誘引され、セントロメア特異的なヘテロクロマチン形成が起こるモデルを提唱した。

以上の研究内容は、学術専門誌(Journal of Biological Chemistry)に掲載公表済みである。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。本研究はスプライシング機構が染色体ヘテロクロマチン形成に関与していることを世界に先駆けて解明した先駆的研究であり、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。

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 斉藤 寿仁
審査委員	沿岸域環境科学教育研究センター	教授 滝尾 進