

氏名(本籍)	たていかずあき	立井一明	(三重県)
学位の種類	医学博士		
学位記番号	博甲第559号		
学位授与年月日	昭和63年3月25日		
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当		
審査研究科	医学研究科		
学位論文題目	Recognition of 5' and 3' splice site sequences in pre-m RNA studied with a filter binding technique (フィルター結合法を用いたメッセンジャー RNA 前駆体上の5'及び3'スプライス部位配列の認識の機構の研究) (掲載誌: The Journal of Biological Chemistry 262巻24号 11667-11672, 1987年)		
主査	筑波大学教授	医学博士	浜口秀夫
副査	筑波大学教授	医学博士	稲田哲雄
副査	筑波大学教授	医学博士	安羅岡一男
副査	筑波大学助教授	薬学博士	井柳堯
副査	筑波大学助教授	医学博士	金澤一郎

## 論文の要旨

### 〈目的〉

真核生物の構造遺伝子は、多くの場合イントロンによって分断されている。正常な遺伝子発現のためには、メッセンジャー RNA 前駆体のスプライシングによって、転写されたイントロン部分が除去されなければならない。メッセンジャー RNA 前駆体には、5'及び3'スプライス配列が存在し、極めて厳密な切断・再結合によって転写されたイントロン部分を除去している。本研究では、スプライシングのメカニズムを明らかにすることを目的とした研究の一環として、5'スプライシング部位及び3'スプライシング部位を認識する因子について分析した。

### 〈材料および方法〉

5'スプライス配列または3'スプライス配列を含む、9-16ヌクレオチドの短い RNA を人工合成した。HeLa 細胞核の抽出液を DEAE-セファロースカラムクロマトグラフィー法により分画し、得られた画分についてスプライス配列を含む RNA との結合をフィルター結合法を用いて調べた。さらに HeLa 細胞抽出液から、U1 RNA タンパク複合体を精製し、上記の RNA との結合を調べた。

### 〈結果および考察〉

HeLa 細胞の核抽出液の画分のうち、U1 RNA タンパク複合体を多く含むリボヌクレオプロテイン画分が、5'スプライス配列を含む RNA とも、3'スプライス配列を含む RNA とも結合した。この結合能は、スプライス配列のヌクレオチドを1個または2個置換した RNA では著明に減少した。精製したU1 RNA タンパク複合体は、5'スプライス配列を含む RNA と結合したが、3'スプライス配列を含む RNA とは結合しなかった。このU1 RNA タンパク複合体の5'スプライス配列を含む RNA との結合活性は、ヌクレアーゼ処理や熱処理で消失した。一方、リボヌクレオプロテイン画分の3'スプライス配列との結合活性は、ヌクレアーゼによる分解に対して耐性であった。この因子はプロテインAセファロースに結合させた抗 Sm 抗体と結合し、蔗糖密度勾配超遠心法で、約8Sの沈降係数を示した。

以上のデータは、U1 RNA タンパク複合体が、5'スプライス配列を直接認識し、その認識には、RNA 部分とタンパク部分の両方が必要であることを示している。また、3'スプライス配列を認識する因子は、U1 RNA タンパク複合体とは異なる、大きさ約8Sの抗 Sm 抗体と反応するヌクレアーゼ耐性の物質であることを示唆している。

## 審 査 の 要 旨

メッセンジャー RNA 前駆体のスプライシングのメカニズムを明らかにするためには、スプライシング部位を認識する因子を同定することが不可欠である。立井一明氏は本研究で、優れた実験計画を立てて最新の技術を駆使した分析を行ない、U1 RNA タンパク複合体が、5'スプライス配列を直接認識することを証明した。本研究のオリジナリティーは極めて高く、今後のスプライシングのメカニズムの解明に大きく寄与するものと思われる。

よって、著者は医学博士の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。