

氏名(本籍)	木村正紀(茨城県)		
学位の種類	博士(農学)		
学位記番号	博甲第5014号		
学位授与年月日	平成21年3月25日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	Translational Regulation in Spermatogenesis (精子形成における翻訳調節に関する研究)		
主査	筑波大学教授	農学博士	馬場 忠
副査	筑波大学教授	農学博士	小林 達彦
副査	筑波大学教授	農学(薬学)	柳澤 純
副査	筑波大学准教授	農学(農学)	柏原 真一

論文の内容の要旨

精子形成は、増殖した精原細胞が精母細胞へと分化し、2回の減数分裂によって生じた球状精細胞が形態変化を遂げながら伸長精細胞を経て、最終的に精子となる一連の過程である。この過程の最終段階では、核凝縮に伴う転写の不活性化が起こるため、必要な mRNA を転写しておき翻訳不活性な状態で貯蔵し、時期特異的に翻訳を活性化させることが必要である。現在まで、精子形成での翻訳調節機構として、mRNA ポリ A 鎖の短縮や RNA 結合タンパク質の mRNA 3' 非翻訳領域への結合などが示唆されてきた。しかし、その分子機構については、いまだに不明な点が数多く残されている。本研究では、精巣で発現しているポリ A 鎖結合タンパク質 PABPC1 と PABPC2、および PABP 結合タンパク質である PAIP2 に焦点を当てて、これらのタンパク質の機能を調べることによってマウス精子形成における翻訳調節に関する新たな知見を得ることを目的とした。

まず、恒常的に存在する PABPC1 と精巣特異的に存在する PABPC2 の細胞内局在や機能に関する相違を調べた。PABPC1 と同様に、PABPC2 は EIF4GI, PAIP1, および PAIP2 などの翻訳調節因子、加えて精巣特異的な RNA 結合タンパク質である PIWILI と相互作用することが明らかになった。これらの PABP 結合タンパク質は、非特異的にさまざまな mRNA ポリ A 鎖に結合することも確認した。また、レポーター mRNA を用いた生体外翻訳試験を行うと、これらの PABP 結合タンパク質がいずれも翻訳を促進することが見いだされた。このような類似性にもかかわらず、PABPC2 は、PABPC1 と異なり、翻訳調節が行われている球状精細胞に多く存在していた。また、PABPC1 は、翻訳が活性化しているポリリボソーム画分に存在しているのに対し、PABPC2 は翻訳が不活性な mRNP 画分だけに存在していた。加えて、PABPC2 は、mRNA の貯蔵や翻訳抑制に関わる球状精細胞のクロマトイドボディに存在することが明確になった。これらの結果から、PABPC2 は、mRNA の貯蔵や翻訳抑制に関与している点で PABPC1 と機能的に相違していることが示唆された。

一方、PAIP2 は精巣に多く存在して翻訳抑制に関与していると考えられている。そこで、精子形成過程で PAIP2 がどのような役割を果たしているのかを明らかにするために、PAIP2 と相互作用する因子を同定し、

そのタンパク質複合体の機能を調べた。興味深いことに、PAIP2 は PABPC1 と PABPC2 に加えて、PIWIL1 と相互作用していることが判明した。PAIP2 タンパク質複合体中には、精巣特異的な低分子 RNA である piRNA が含まれていた。また、この PAIP2 複合体の RNA 分解活性を調べたところ、piRNA の配列依存的に分解を行うことが見いだされた。このように、PAIP2 タンパク質複合体は特異的な RNA の分解を通して mRNA 量の調節に関与していることが示唆された。

以上の研究によって、マウス精子形成過程において、PABPC2 が mRNA の貯蔵や翻訳抑制で機能していることと、PAIP2 タンパク質複合体が RNA 分解で重要な役割を演じていることが明らかになった。

審査の結果の要旨

マウス精子形成過程での翻訳調節機構は、長い研究の歴史があるにもかかわらず、完全解明には至っていない。また、近年、精巣特異的に発現する膨大な数の低分子 RNA (piRNA) の翻訳調節への関与が示唆されており、その分子機構はより複雑になっている。

この研究では、PABPC1, PABPC2, および PAIP2 の細胞内局在や分子間相互作用を調べ、それらの機能を明確にすることを試みている。PABPC1 と比較すると、PABPC2 が相互作用する分子種は極めて類似しているが、PABPC2 は細胞での局在が PABPC1 と大きく異なっている。すなわち、PABPC2 は細胞質だけでなく球状精細胞のクロマトイドボディーでも存在しており、翻訳抑制や mRNA 貯蔵で機能している可能性がはじめて見いだされた。また、PAIP2 と相互作用する因子を同定し、PAIP2 タンパク質複合体が特異的な RNA の分解に関与することを生化学的見地から証明した。さらに、PABPC1, PABPC2, および PAIP2 が piRNA と結合する PIWIL1 と相互作用することも明らかにし、これらの因子が低分子 RNA を介した翻訳調節に関与していることを提唱した。

これまで不明であった PABPC1, PABPC2, および PAIP2 の機能に関して、それらの局在や相互作用因子との機能をある程度明確にした点は十分に評価できるが、普遍的な最終結論を得るまでには至っておらず、今後に残された課題も少なからずある。しかし、研究自体は非常に注意深く行われているため、十分な信頼性を有しており、当該研究分野の発展に貢献したと考えられる。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。