

氏名	横山 航		
学位の種類	博 士 (生物工学)		
学位記番号	博 甲 第 8607 号		
学位授与年月日	平成 30年 3月 23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	Studies on N^1 -Methyladenosine Modification of rRNA in Multicellular Organisms (多細胞生物におけるrRNAのm ¹ A修飾に関する研究)		
主査	筑波大学教授	農学博士	深水昭吉
副査	筑波大学教授	博士 (農学)	谷本啓司
副査	筑波大学准教授	博士 (薬学)	木村圭志
副査	筑波大学助教	博士 (農学)	廣田恵子

論 文 の 要 旨

審査対象論文は、遺伝情報の発現過程で中心的な役割を果たす RNA が 100 種類以上もの化学修飾により制御されている点に着目し、特に、 N^1 -メチルアデノシン (m¹A) 修飾について研究を行い、その内容を記述したものである。著者は、第一章では序論として、m¹A 修飾が主要な RNA 種 (mRNA、tRNA、rRNA) の全てに存在し、RNA の構造や機能の制御に関与すること、rRNA では大腸菌や酵母でその修飾因子が同定されてきたものの、ヒトや線虫などの多細胞生物では修飾責任因子は不明であり、機能もほとんど明らかになっていないことを述べている。そこで著者は、多細胞生物における rRNA の m¹A 修飾について理解することを目的とし、哺乳類培養細胞と多細胞モデル生物である線虫を用いて、*in vitro* と *in vivo* の両面からの検証を行っている。

本論文の第二章において著者は、先行報告で rRNA の m¹A 修飾因子として報告された酵母 Rrp8 の哺乳類ホモログである NML を研究対象とし、NML と m¹A 修飾の関連、さらに、NML が細胞機能に与える影響を検証している。定量的 RT-PCR 法を利用した RNA メチル化解析、および抗 m¹A 抗体を用いた RNA 免疫沈降実験を行い、NML が 28S rRNA の m¹A 修飾に必要であり、タンパク質合成装置であるリボソームを構成する 60S サブユニットの形成に関与することを見出している。さらに、NML が 60S サブユニット構成タンパク質の一つである RPL11 を介し、がん抑制因子 p53 のタンパク質量を調節することで、細胞増殖を制御していることを明らかにしている。

続く第三章では、m¹A 修飾の機能を個体レベルで明らかにするため、線虫を用いて解析を行っている。これまで、線虫の rRNA における m¹A 修飾の存在は報告されていなかったため、質量分析計で m¹A 修飾の定量実験系を確立し、哺乳類 28S rRNA に相当する線虫の 26S rRNA に m¹A 修飾が存在することを示し

ている。また、定量的 RT-PCR 法を利用した RNA メチル化解析のプライマー設計を工夫することで、線虫における m¹A 修飾が 26S rRNA 中の 674 番目のアデノシン残基に導入されることを見出している。さらに、その修飾責任因子として哺乳類 NML の線虫ホモログである T07A9.8 を同定し、その遺伝子を新たに *rram-1* と命名し、*rram-1* が寿命制御に寄与することを明らかにしている。

審 査 の 要 旨

遺伝情報発現において中心的な役割を果たす RNA は、転写後にメチル化などの化学修飾を受け、その修飾は RNA の構造安定性や機能に影響することが知られている。本論文では、RNA メチル化修飾の一つである N¹-メチルアデノシン (m¹A) 修飾に着目し、哺乳類培養細胞を用いて検討を加え、rRNA の m¹A 修飾がリボソーム形成と p53 依存的な細胞増殖の制御に寄与することを解明している。さらに、多細胞モデル生物である線虫における rRNA の m¹A 修飾とその責任因子 RRAM-1 を初めて同定し、RRAM-1 が寿命制御に関与することを見出している。これらの知見は、多細胞生物における rRNA の m¹A 修飾が果たす役割を世界に先駆けて提示したという点で重要な意義がある。一方、本論文において、RRAM-1 が老化制御に関わりの強いオートファジーの活性を調節する可能性を見出しているが、その調節機構に対する m¹A 修飾の関与は明確ではない。今後、RRAM-1 の m¹A 修飾活性変異体を用いた検証により、生物老化の仕組みの理解につながることを期待できる。また、本論文で著者は、定量的 RT-PCR 法を利用した RNA メチル化解析のプライマー設計を工夫することで、メチル化部位を一塩基レベルで特定することに成功している。本方法は、従来のプライマーエクステンション法と比較して簡便であり、RNA のメチル化-脱メチル化反応の研究への応用が期待できる。

本論文は、多細胞生物における rRNA の m¹A 修飾が果たす役割について、細胞および個体を用いた検討での解明に取り組み、rRNA の m¹A 修飾による老化制御という生理的意義を新たに考察した研究として評価できる。

平成30年1月18日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査および最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判断された。

よって、著者は博士（生物工学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。