

ふりがな みながわ あさこ
氏名 皆川 麻子
学位 博士(理学)
学位記番号 新大博(理)第52号
学位授与の日付 平成17年3月23日
学位授与の要件 学位規則第4条第2項該当
博士論文名 Cloning and Expression of tRNase Z cDNAs from Various Species and
Biochemical Analyses for the Recombinant tRNase Z's
(様々な生物種由来の tRNase Z cDNA のクローニングと発現、および組み換え
tRNase Z についての生化学的解析)

論文審査委員 主査 教授 内海利男
 副査 教授 小谷昌司
 副査 教授 細野正道
 副査 教授 小林道頼
 副査 教授 堀米恒好

博士論文の要旨

申請論文の内容は、生体内遺伝情報翻訳反応で主役を演じる tRNA の転写後プロセッシングに関するもので、3' 末端を切断する酵素 (tRNase Z) について、cDNA クローニング後、分子機能についての詳細な研究結果がまとめられている。本論文は三章より構成され、内容は以下のように要約される。

真核生物の tRNase Z には高分子型の tRNase ZL と低分子型 tRNase ZS が存在するが、第1章ではヒト tRNase ZL の cDNA のクローニングと大腸菌による活性を保持した酵素の発現にはじめて成功したこと、さらに、遺伝子組み換え実験により tRNase の C 末端側に 3' 末端切断活性が含まれることを示している。また、クローン化されたこの遺伝子が前立腺ガンの原因遺伝子と考えられている ELAC2 と同一であることをつきとめ、ガン化を伴うと考えられる tRNase ZL 分子の変異と酵素活性の関係についての解析結果が示されている。

第2章では、tRNase ZL の N 末端側が関与する特徴的な酵素活性 (RNase 65) についての検証結果を示している。この活性は基質となる tRNA の限られた一部の構造のみを認識し、正確に 3' 末端を切断する活性で、tRNase ZS はこの機能を保有しないことを示している。また、この活性には、基質 RNA の切断部位上流の安定な 4 塩基対合と一部のステムループ構造が必須であることを明らかにしている。この対合を組めば、一分子の RNA 基質はもとより、対合を組みうる二本鎖 RNA から成る基質系でも切断反応が成立することを立証している。

第3章では、原核生物 *Thermotoga maritima* 由来の tRNase ZS の cDNA を初めてクローニングし、発現タンパク質を用いて 3' 末端切断反応機構を検証した結果、真核生物とは異なり基質 RNA に含まれる CCA 配列の 3' 側直後で切断することを証明した。さらに、この特徴に起因する RNA 基質側のヌクレオチド残基と酵素側のアミノ酸残基を遺伝子組み換えの手法を用いた詳細な解析により明らかにしている。

審査結果の要旨

平成17年2月21日(月)に開催された生命・食料科学専攻博士論文公開発表会の終了後に審査委員会を開催し、本論文の内容を評価し、以下のように各委員の意見が一致した。

- 1) tRNAはその3'末端に結合した特定のアミノ酸を遺伝情報翻訳反応系に提供する分子である。tRNAがアミノ酸を受容するためには、この分子が転写された後、3'末端が正確な部位で切断され、加工(プロセッシング)を受ける必要がある。本研究で、この切断反応を担う酵素、tRNase ZLの遺伝子が動物細胞で初めてクローン化され、その性質が明らかにされたことは、この反応系の基礎が築かれたことを意味するもので高く評価される。さらにこの遺伝子がヒト前立腺ガンの原因遺伝子と一致するという発見は、基礎医学の研究領域に重要な知見を提供するものである(第1章)。
- 2) tRNase ZLにはtRNA全体の構造を認識してはたらく切断活性の他に、tRNAの部分的な構造のみを認識してはたらくRNase 65活性を保有する。本研究により、動物細胞に特徴的なRNase 65活性の分子基盤が一部解明された。研究成果は、tRNase ZLがtRNAプロセッシング機構に寄与するばかりでなく他のRNA分子の分解にも寄与することを示唆するもので今後の発展が期待される(第2章)。
- 3) 原核生物 *T. maritima* tRNase ZSのcDNAをクローニングしその特徴を初めて報告したもので高く評価できる。特に、3'末端に含まれるCCA配列の直後で切断する原核生物特有の反応機構を分子レベルで明らかにした点は重要な知見である(第3章)。

1~3の成果はいずれも著名な国際学術雑誌に掲載または掲載予定であり、評価されている。よって本申請論文は博士(理学)の学位論文として十分であると認定した。