

研究課題別研究評価

1. 研究課題:mRNA を運ぶしくみ:制御ネットワークと核の動的機能構造

2. 研究者名:谷 時雄

3. 研究のねらい

遺伝子の保存と転写の場である核と、タンパク質への翻訳の場である細胞質が、核膜によって隔てられている真核生物においては、遺伝子から転写された mRNA の核から細胞質への輸送過程が遺伝子発現に必須である。しかしながら、その詳細な分子機構に関しては未だに不明な部分が多い。本研究では、分裂酵母 *Schizosaccharomyces pombe* を用いて mRNA の核から細胞質への輸送機構に関わる因子群の同定とそれらの機能解析を行った。

4. 研究成果と自己評価

ポストゲノム研究の時代を迎えるにあたって、遺伝子の転写後発現調節機構の解明は重要な課題となっている。mRNA の核から細胞質への輸送は、転写後発現調節機構のなかでも解析が最も遅れている分野である。本研究では、mRNA の核外輸送に関わる因子群を、遺伝学的操作が行いやすく且つ高等真核生物と類似点の多い分裂酵母 *S. pombe* を用いて同定し、さらにそれら因子の機能を解析した。まず、分裂酵母の生育に関する温度感受性変異株バンクの中から、制限温度下で mRNA を核に蓄積する変異株を、オリゴ dT をプローブに用いた *in situ* hybridization 法を用いて、mRNA の細胞内分布を可視化することにより分離した。およそ 1,500 株からなる温度感受性変異株バンクをスクリーニングした結果、9 種類の異なる相補性グループに属する mRNA 核外輸送変異 (*ptr1*~*ptr9*; poly A⁺ RNA transport) が同定された。

次に、*ptr1* 変異から *ptr8* 変異までの原因遺伝子を、突然変異宿主の機能相補によってクローニングした結果、*ptr1*⁺ 遺伝子と *ptr3*⁺ 遺伝子がタンパク質のユビキチン化反応に関わるタンパク質をコードしていることが明らかになり、mRNA の核外輸送過程においてタンパク質のユビキチン化反応が重要な役割を果たしていることが初めて示された。また、*ptr6*⁺ 遺伝子はヒト転写因子複合体 TFIID の構成因子 hTAFII55 の分裂酵母相同因子を、*ptr8*⁺ 遺伝子は別の転写因子複合体 TFIIH の構成因子で、紫外線照射などによる DNA 損傷の除去修復機構に関与するヒト色素性乾皮症の原因遺伝子 ERCC3 の分裂酵母相同因子をそれぞれコードしていることが明らかになった。mRNA 核外輸送変異株の原因遺伝子がこれらの転写因子をコードしていたことは、遺伝子の転写機構と mRNA の核外輸送機構とが密接に連携していることを示唆している。*ptr6* や *ptr8* 変異株においては、タンパク質の核内外への輸送に異常がないことから、Ptr6p と Ptr8p タンパク質は mRNA の核外輸送に特異的に関わっていると考えた。

一方、*ptr7* 変異の原因遺伝子は生育に必要な新規核タンパク質をコードしていた。Ptr7p はヒトから酵母まで生物種間でよく保存されている因子で、ATP 結合活性を保持していることが *in vitro* 結合実験によって示された。興味深いことに、*ptr7-1* 変異株は制限温度下で培養すると、mRNA の核外輸送阻害のみならず、タンパク質の核内外への輸送阻害、mRNA の 3'末端形成異常、細胞形態の変化、核小体の構造変化(分断化)、G1 期停止などの非常に多面的な表現型を示した。また、yeast two-hybrid screening を用いて、Ptr7p と相互作用する因子を検索した結果、RasGAP、eIF4E、Hsp27 といった多様な因子と細胞内で相互作用している可能性が示された。これらの結果から、Ptr7p は ATP との結合を介して機能する様々な細胞内反応の分子スイッチとして機能している可能性が考えられた。

mRNAの核から細胞質への輸送機構に関する研究は、遺伝子の転写後調節機構解明の一環として、ここ2、3年の間に非常に多くの注目を集め、急速な進展が見られた。しかし、当初の予想以上に、mRNAの核外輸送過程は複雑であり、今回の研究によって8種類の核外輸送機構に関わる因子を同定したが、それらの因子の輸送機構における具体的な役割を解明するまでには残念ながら至らなかった。しかし、遺伝子の転写やプロセッシングに関わるPtr6pからPtr8pまでの一連の因子がmRNA核外輸送に必須な因子として同定され、近い将来これらの因子の解析を通して遺伝子の転写とmRNA核外輸送の連携機構が明らかになることが期待される。今後は本研究によって得られた知見を基に、mRNAの核外輸送制御による発生や分化といった高次生命現象の調節機構の解明までを視野に入れて、更なる研究を展開したいと考えている。

5. 領域総括の見解

真核生物では、転写されたmRNA分子は、翻訳の場であるリボソームの存在する細胞質へ核膜を通過して出て行く。本研究では分裂酵母を材料にこの機構に関与する因子の検索を行った。まず、制限温度(37°C)で生育不能となる温度感受性突然変異細胞の集団から、mRNA分子を核内に留める変異株を、mRNA分子の3'末端ポリA配列に結合するオリゴdTをプローブとして分離した。次いで、それら変異株よりptr1⁺からptr8⁺と命名する8遺伝子のDNA断片を得た。その内のptr1⁺とptr3⁺はタンパク質ユビキチン化反応に関わり、ptr6⁺とptr8⁺は転写因子を構成するタンパク質をコードすると示唆された。また、ptr7⁺は生育に必須の核タンパク質をコードし、ATPの外に様々なタンパク質と結合して分子スイッチとして働くことを示唆している。これらの成果は、解析操作の容易な分裂酵母でも注目すべき成果と評価したい。

6. 主な発表論文

Habara, Y., Urushiyama, S., Ohshima, Y., and Tani, T. Mutation in the *prp12⁺* gene encoding a homologue of human SAP130/SF3b130 causes differential inhibition of pre-mRNA splicing and arrest of cell cycle progression in *Schizosaccharomyces pombe*. (*RNA*, in press)

Tatebayashi, T., Tani, T., and Ikeda, H. Fission yeast Toi1p, which interacts with the small GTPase Ran, is required for mitosis-to-interphase transition, nuclear protein import, and poly (A)⁺ RNA metabolism. (*Genetics*, in press)

Shibuya, T., Tsuneyoshi, S., Azad, A. K., Urushiyama, S., Ohshima, Y., and Tani, T. (1999). Characterization of the *ptr6⁺* gene in fission yeast: A possible involvement of a transcriptional coactivator TAF in nucleocytoplasmic transport of mRNA. *Genetics*, 152, 869-880.

Habara, Y., Urushiyama, Y., Tani, T., and Ohshima, Y. (1998). The fission yeast *prp10⁺* gene involved in pre-mRNA splicing encodes a homologue of highly conserved splicing factor, SAP155. *Nucleic Acids Res.*, 26, 5662-5669.

7. その他

招待講演 3件 うち 国内2件、 国外1件

受賞、特許なし