

人工PPRタンパク質を用いた翻訳制御ツールの開発

平, 寧

<https://hdl.handle.net/2324/7182541>

出版情報 : Kyushu University, 2023, 博士 (農学), 課程博士

バージョン :

権利関係 : Public access to the fulltext file is restricted for unavoidable reason (3)

| | | | | |
|--------|----------------------------|------|-----|------|
| 氏名 | 平 寧 | | | |
| 論文名 | 人工 PPR タンパク質を用いた翻訳制御ツールの開発 | | | |
| 論文調査委員 | 主査 | 九州大学 | 教授 | 中村崇裕 |
| | 副査 | 九州大学 | 准教授 | 風間智彦 |
| | 副査 | 九州大学 | 教授 | 花井泰三 |

論文審査の結果の要旨

近年、CRISPR/Cas システムを含む様々な DNA/RNA 編集技術が開発されている。その一つに、pentatricopeptide repeat (PPR) タンパク質を利用した新たな RNA 制御技術がある。PPR タンパク質は、植物に非常に多く存在する RNA 結合タンパク質であり、35 個のアミノ酸で構成される PPR モチーフ十数個からなるリピート構造で形成されている。RNA との結合において、一つの PPR モチーフが一つの RNA 塩基に対応し、PPR モチーフ内の 3 箇所のアミノ酸の組み合わせによって結合する RNA 塩基が決定する。この特徴を利用することで、標的とする RNA 配列に特異的に結合する人工 PPR タンパク質が設計可能である。

人工 PPR タンパク質にスプライシング因子、翻訳因子、塩基置換酵素、または RNA ヌクレアーゼなどをつなげた様々な RNA 制御ツールがこれまでに開発されており、特に医療への応用が進められている。様々な RNA の反応の中でも、翻訳は最終的な遺伝子発現レベルを決定する重要な制御段階であるとともに、様々な疾患にも関与することが知られている。PPR タンパク質を利用した翻訳活性化技術については、我々のグループの先行研究により、天然 PPR タンパク質と翻訳開始因子 eIF4G を連結させることで、レポーター遺伝子の翻訳活性化が動物培養細胞で可能であることが示されているが、内在遺伝子に適用できるかはまだ明らかでなかった。

本論文では、PPR タンパク質を利用した翻訳活性化技術の内在遺伝子への適用可能性を *p53* および *c-Myc* を標的 RNA として実証することを目的とした。*p53* および *c-Myc* の過剰発現により細胞増殖がそれぞれ抑制および促進されるため、細胞増殖の変化で PPR ツールの有用性を実証できると考えた。*p53* および *c-Myc* mRNA の 5' 非翻訳領域を標的とする人工 PPR タンパク質と eIF4G を連結したタンパク質を動物培養細胞で発現させた結果、*p53* と *c-Myc* の翻訳の活性化、および細胞増殖の抑制と促進を制御できることを実証した。また、翻訳の活性化が標的 RNA 配列の位置と eIF4G の存在の両方に依存することから、通常知られているキャップ依存的な翻訳開始機構とは異なる翻訳活性化機構の存在を示唆した。

さらに、本技術の医療への適用を進めるために、アデノ随伴ウイルスベクターに搭載可能な PPR ツールの小型化を検討した。その結果、N⁶-メチルアデノシンを含む mRNA を認識することで翻訳に関わることが知られている YTH domain-containing family protein 1 (YTHDF1) を PPR タンパク質に連結した小型の PPR ツールでも、*p53* の翻訳活性化、およびがん細胞の増殖阻害が可能であることを示した。

以上要するに、本論文は、PPR タンパク質を利用した翻訳活性化技術が動物細胞の様々な内在 RNA に適用可能な汎用性の高い技術であり、細胞運命を制御できることを示すと同時に、新たな翻訳活性化機構の存在を示唆した。加えて、将来の医療応用に向けて、PPR タンパク質を利用した新たな小型の翻訳活性化ツールを開発した。本研究の成果は、ゲノム工学の発展に寄与する価値ある業績として認める。よって本研究者は博士（農学）の学位を得る資格を有するものと認める。