

氏名	谷口 理香子
授与した学位	博士
専攻分野の名称	生体制御科学専攻
学位授与番号	博甲第 7037 号
学位授与の日付	令和 6 年 3 月 25 日
学位授与の要件	医歯薬学総合研究科生体制御科学専攻 (学位規則第 4 条第 1 項該当)
学位論文の題目	Protein arginine methyltransferase 1 の S-ニトロシル化を介したアルギニンジメチル化修飾抑制による DDX3 機能と転写への影響
論文審査委員	教授 有吉 範高 (主査) 准教授 宮地 孝明 准教授 表 弘志

学位論文内容の要旨

一酸化窒素 (nitric oxide: NO) は生体内で産生され、低濃度では血管拡張や神経伝達などの生理機能を担う。一方、NO の過剰量長期曝露条件下では神経変性疾患などの病態形成に寄与することが知られている。NO の作用メカニズムの一つとして、タンパク質システイン残基のチオール基を可逆的に修飾する S-ニトロシル化 (S-nitrosylation: SNO 化) を介して基質の酵素活性や局在を変化させることが報告されている。近年、網羅的解析法の確立により、SNO 化タンパク質の同定が進んでいるが、個々のタンパク質 SNO 化による影響は不明なものが多い。そこで本研究では、SNO 化による影響が明らかとなっていない protein arginine methyltransferase 1 (PRMT1) に着目した。PRMT1 はモノメチル化と非対称性ジメチルアルギニン (asymmetric dimethyl arginine: ADMA) 化を担う主要な酵素である。PRMT1 はメチル化を介して、タンパク質-核酸間の相互作用、酵素活性、局在、安定性などを変化させ、種々のタンパク質の機能制御に寄与している。PRMT1 の基質にはヒストン H4 のアルギニン (R) 3 が含まれ、転写調節に関与している。また PRMT1 の基質として、多くの RNA 結合タンパク質が単離同定され、スプライシングや翻訳などの RNA 代謝に関わっていることが明らかにされてきた。その一方で、PRMT1 の酵素活性制御機構についてはほとんど不明である。そこで本研究では、PRMT1 の SNO 化を介した酵素活性への影響と RNA 代謝や転写への関与を明らかにすることを目的として取り組んだ。

まずビオチンスイッチアッセイから、PRMT1 が NO 処理濃度依存的に SNO 化され、さらにシステイン 119 の部位で SNO 化されることが明らかとなった。そこで、PRMT1 の SNO 化による酵素活性への影響検討したところ、NO 処理濃度依存的にタンパク質全体またはヒストン H4R3 の ADMA 化レベルが減少した。そこで、BioID を用いて PRMT1 基質の探索を行った結果、1349 種の基質候補が同定された。Gene Ontology 解析から、RNA 代謝に関わるタンパク質が多く含まれることが分かったため、RNA ヘリカーゼである DEAD-box helicase 3X-linked (DDX3) に着目した。PRMT1 と DDX3 を共発現させて共免疫沈降を行い、PRMT1 と DDX3 が相互作用することを確認した。その際、DDX3 が ADMA 化されること、ならびに本修飾は NO 感受性であることが明らかとなった。さらにヘリカーゼアッセイから、DDX3 のヘリカーゼ活性が NO 処理によって上昇することが明らかとなった。さらに DDX3 の基質である signal transducer and activator of transcription 1 (STAT1) のタンパク質レベルでの発現が NO によって増加した。また、転写における NO の影響を検討するため gene set enrichment analysis (GSEA) を行ったところ、PRMT1 ノックダウンおよび阻害薬処理における発現変動遺

伝子は NO 処理時にも同様の発現変動傾向を示すことが明らかとなった。

以上から、NO は PRMT1 の SNO 化による酵素活性の抑制を介して、RNA 代謝や転写を制御する可能性が示唆された。

論文審査結果の要旨

提出された論文原稿を読み、審査員間の会議後に主査が主たる加筆修正点をまとめると共に、各審査員から提出された詳細なコメントを申請者に送り、特に考察部分の補強を求めた。本審査は、1月23日に申請者と主査・副査2名が参加し、面談・口頭で行われた。本審査では、主たる加筆修正部分について、申請者に根拠に基づく説明を求めた。その過程において、論文内容が申請者自身による研究結果であることが確認できた。オミックス解析のデータも持参いただき、研究の新規性も十分確認できた。主たる加筆修正点における考察の補強は、審査員の指摘や依頼に基づき、概ね適切になされていると判断されたが、若干の不足や細かい修正が間に合っていない点があり、修正版を送るよう申請者に求めた。論文タイトルや章構成についても変更がなされた修正論文が1月29日に提出され、内容を確認したところ、考察部分がやや冗長になっており、再度の修正を求め、2月5日に修正論文が提出された。指摘事項に沿って丁寧かつ適切に修正されており、これをもって博士論文として問題ない旨、審査員間で合意された。

以上の審査結果を持って、合判定とした。