

# 論文審査の結果の要旨

氏名 吉村邦泰

本論文は、蛋白質合成において終止コドン特異的にペプチド鎖解離反応を触媒する分子、ペプチド鎖解離因子の機能解析を行ったものである。解離因子は、tRNA との機能的類似性を持つことが示されている蛋白分子であるが、リボソーム結合については、tRNA との相違性を有しており、本論文では、リボソーム結合に関わる機能ドメインの検索とリボソーム結合様式の解析結果について報告している。解析結果は二部から構成されており、それぞれ以下の内容について述べられている。

## 1. 解離因子のリボソーム結合ドメインの検索

解離因子のリボソーム結合解析の足掛かりとして、遺伝学的手法に基づき、優性に野生型解離因子の機能阻害を引き起こす新規変異体の分離を行った。変異体の性状解析から、この変異体は、C 端側領域の機能欠損により N 端側領域のみが機能することで、リボソーム上で野生型解離因子と競合することが示唆された。分離された変異体にナンセンス変異体が存在していたことから、C 端側のアミノ酸領域を構造的に欠失した解離因子断片もリボソーム結合活性を有することが示されたため、続いて、系統的に部分欠損解離因子断片を作製し、野生型解離因子に対する機能阻害を指標として、リボソーム結合に関わる機能ドメインの検索を行った。結果として、20 アミノ酸長の領域がリボソーム結合に関与することが示された。また、分子遺伝学的手法により、リボソーム結合に関わるアミノ酸残基の検索を行い、コドン認識に関わる「ペプチドアンチコドン」のごく近傍に位置する 5 アミノ酸残基を特定した。

## 2. 解離因子のリボソーム結合様式の *in vitro* 解析

*in vitro* でリボソーム結合の機能解析を行うことを目的として、新たにリボソーム結合解析系を構築し、その有効性を確認した。この解析系を用いて、解離因子の終止コドン特異的なリボソーム結合の定量的評価を行い、ペプチド鎖解離活性の強度がリボソーム結合強度を反映することを明らかにした。更に、先に分離した変異体についてリボソーム結合解析を行い、この変異体が終止コドン識別の段階でリボソームに留まることを明らかにした。

一連の解析から、解離因子のリボソーム結合には、コドン非特異的な結合とコドン特異的な結合という二つの結合状態が存在し、この二段階のリボソーム結合によりコドン識別の効率化を図るという、「Multi-step ribosome binding 仮説」を提唱した。

### 本論文の意義

本論文によって、ペプチド鎖解離因子のリボソーム結合に関わる機能領域が初めて特定されたとともに、新たなリボソーム結合状態の存在が明らかとなった。このことは、翻訳伸長反応と翻訳終結反応の機能的相同性を示すものである一方、その機能実現のメカニズムにおける終結反応の独自性を明らかにするものである。また、本論文において新たに構築した *in vitro* リボソーム結合解析系は、リボソーム側からの終結反応の解析を可能とする有力な解析系であり、本解析系の導入により、更なる終結反応機構理解が深まることが期待される。

なお、本論文は、伊藤耕一、中村義一との共同研究であるが、論文提出者が主体となつて解析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。