

## 審査の結果の要旨

氏名 細田 直

転写に加えて翻訳と mRNA 動態の制御は、広義の遺伝子発現にとって重要な調節機構と考えられる。翻訳の最終段階においては、リボソームが終止コドンを認識し、新生ポリペプチド鎖をリボソームから解離させるが、この終結反応には、tRNA に類似し、終止コドンを認識する eRF1 と最近 eRF3 として同定された GSPT の 2 種の因子が介在する。eRF3/GSPT は翻訳伸長因子である EF-1 $\alpha$  と相同性の高い G 蛋白質であり、eRF1 をリボソーム上の終止コドンまで運搬する役割をもつ。しかしながら、GSPT/eRF3 には EF1 $\alpha$  類似領域に加えて、eRF1 との結合には関与しない約 200 アミノ酸の N 末端領域が存在し、その領域は poly(A) 鎖結合蛋白 PABP と相互作用することが示された。PABP は mRNA の poly(A) 鎖に結合することにより mRNA の安定化に寄与することから、GSPT は翻訳終結反応のみならず、終結と共役して mRNA の分解過程をも制御する可能性が考えられた。

「翻訳終結と mRNA 分解の共役因子として機能する酵母 G 蛋白質 GSPT」と題する本論文では、真核生物のモデルとして出芽酵母を利用し、酵母 GSPT である *GST1/SUP35* の N 末端領域過剰発現株、温度感受性変異株、遺伝子破壊株の mRNA 動態について詳細に解析し、GSPT の N 末端領域が PABP を介して mRNA の分解を制御することを明らかにしている。

### 1. Poly(A)-binding protein (Pab1p) と結合する酵母 GSPT

哺乳動物で見出された GSPT と PABP との結合が、生理的条件下の酵母においても観察されるかについて先ず解析された。染色体上への相同組み換えによって酵母 *Gst1p*、*Pab1p* の C 末端部位にそれぞれ Myc と HA タグ配列を導入し、抗 HA 抗体を用いて免疫沈降した結果、酵母 *Gst1p* と *Pab1p* の結合が確認された。さらにこの結合は *Gst1p* の N 末端領域を過剰発現すると阻害されることから、*Gst1p* はその N 末端領域で *Pab1p* と結合することが示された。

### 2. 酵母 GSPT/N 末端領域欠失株における種々の mRNA の安定化

酵母 GSPT/N 末端領域の直接的な役割を解明するために、相同組み換え及び N 末端欠失変異体遺伝子をもつシングルコピーベクターの導入によって、*GST1* N 末端領域のみを欠失させた変異株を作製した。この *GST1* N 末端領域欠失変異株と野生株を、種々の mRNA 分解（半減期の短い mRNA の代表例である *MFA2*、

半減期の長い mRNA の代表例である *PGK1*) について比較検討した結果、いずれにおいても変異株で mRNA 分解の安定化が観察された。すなわち、GSPT の N 末端領域は mRNA 分解の促進に寄与しており、この機構は種々な mRNA に普遍的なメカニズムであることが明らかにされた。

### 3. 酵母 GSPT の N 末端領域欠失株における poly(A)鎖長短縮の抑制

一般に mRNA は、脱アデニル化酵素により poly(A)鎖長が 10 塩基程度まで短縮された後、5'→3'エキソヌクラーゼによって分解されることが知られている。この mRNA 分解過程の律速段階は、poly(A)鎖の短縮化にあることから、*GST1* N 末端領域欠失変異株における poly(A)鎖の短縮化について検討された。その結果、変異株では野生株と比較して、定常状態における各種 mRNA の poly(A)鎖は長くなる傾向があり、さらに poly(A)鎖の短縮化が阻害される現象が認められた。すなわち、GSPT の N 末端領域は poly(A)鎖の短縮化に作用して、mRNA の分解を促進する機能をもつことが明らかにされた。

### 4. 翻訳に依存した酵母 GSPT を介する mRNA 分解の促進

mRNA 分解と翻訳との関連を探る目的で、5'非翻訳領域に stem-loop 構造を導入した mRNA の動態を解析した。この mRNA からの翻訳は完全に阻害されると共に、mRNA の分解は顕著に抑制された。すなわち、翻訳に依存して mRNA 分解を促進する機構の存在が示唆された。次にこの翻訳に依存した mRNA 分解に対する GSPT の関与について、先の *GST1* N 末端領域欠失変異株を用いて検討した結果、翻訳されない mRNA の安定化は観察されなかった。すなわち、GSPT の N 末端領域は翻訳と共役して mRNA 分解を促進することが明らかにされた。

以上を要するに、eRF3 として先に同定された GSPT は、翻訳終結だけでなく mRNA 分解の律速段階である poly(A)鎖の短縮化に介在することにより、翻訳過程と共役して mRNA 分解を促進する機能をもつことを本論文で明らかにしている。この mRNA 分解の制御は、PABP との相互作用を介した poly(A)鎖をもつ mRNA において普遍的な機構であることが示されている。これらの研究成果は、翻訳の頻度に応じて mRNA 分解が促進される現象、すなわち mRNA の寿命を規定する現象の分子機構を提唱しており、博士（薬学）の学位として十分な価値があるものと認められる。