

論文審査の結果の要旨

氏名 寺崎 真樹

本論文では哺乳動物ミトコンドリアリボソームにおける RNA からタンパク質への機能移行について検証を行っている。

まず、哺乳動物ミトコンドリアのリボソームタンパク質の同定を通して原核生物リボソームとの構造面の比較を行い、続いて翻訳因子の互換性から機能面の比較を行うことで RNA からタンパク質への機能移行の可能性に関する研究を進めている。

本論文は序論、1～4章とまとめからなっている。

序論において、研究の背景と目的および既存の研究について述べている。

第1章はミトコンドリアリボソームの調製、第2章はミトコンドリアリボソームタンパク質の解析について述べている。

牛肝臓よりミトコンドリアリボソームを精製し、そこからリボソームタンパク質を抽出し、二次元電気泳動を行って個々のタンパク質に分画し、質量分析法およびペプチドシーケンサを用いた N 末端分析によって個々のリボソームタンパク質の同定を行っている。

そして、同定されたミトコンドリアリボソームタンパク質を大腸菌リボソームタンパク質における相団体と比較することで、ミトコンドリアリボソームにおいてリボソーム RNA が保存されている部分に結合しているリボソームタンパク質は大きさがほとんど変わっていないのに対して、リボソーム RNA が短縮化した部分に結合しているリボソームタンパク質が特異的に肥大化していることを明らかにし、原核生物リボソームにおいて RNA が担っていた構造的な役割をミトコンドリアリボソームにおいてタンパク質が肩代わりしていった可能性を示唆している。

さらに第3章は L7/12 の塩基配列の決定および調製、第4章は翻訳因子の互換性について述べている。

ミトコンドリアの伸長因子 EF-G は大腸菌リボソームで機能するが、大腸菌 EF-G はミトコンドリアリボソームでは機能しないという特異性が、両者のリボソームのどのような性質によって決定されているのかを検証するにあたり、EF-G と直接相互作用することが知られているストークタンパク質 L7/12 に着目し、第3章においてウシミトコンドリアの L7/12 の全塩基配列を決定し、さらにヒトミトコンドリアと大腸菌の L7/12 の大腸菌大量発現系による発現および精製を行っている。

そして、第4章においてミトコンドリアと大腸菌のリボソームによる EF-G の GTPase 活性と L7/12 単独による GTPase 活性の特異性が同様の傾向を示すことを明らかにし、リボソームの EF-G に対する特異性が L7/12 によって決定されていることを示唆している。

さらに実際のリボソーム上においても L7/12 が特異性を決定していることを、ミトコンドリアリボソームのうち L7/12 のみを大腸菌のものにおきかえたミトコンドリアハイブリ

ッドリボソームを作製し、その GTPase 活性とポリウリジン依存ポリフェニルアラニン合成能を評価することによって証明している。そして、たった 1 つのリボソームタンパク質 L7/12 の置換によって、大腸菌とミトコンドリアのリボソームはお互いの EF-G を交換できることから、構成成分の著しい違いに関わらず両者のリボソームは全体としては機能的に等価であり、RNA からタンパク質へ構造面のみならず機能面でも役割の移行がなされたことを強く示唆している。

また、大腸菌リボソームのうち L7/12 のみをミトコンドリアのものに置き換えた大腸菌ハイブリッドリボソームの作製の過程から、ミトコンドリアと大腸菌の L7/12 の N 末ドメインと L10 の結合の強さの関係を明らかにし、大腸菌ハイブリッドリボソームのポリウリジン依存ポリフェニルアラニン合成能の EF-Tu に対する特異性から L7/12 の C 末ドメインと EF-Tu の機能的な相互作用が EF-Tu の活性化に重要であることを示唆している。

そして、ミトコンドリアと大腸菌のタンパク質合成系を比較することがリボソームにおける RNA からタンパク質への機能移行の理解のみならず、リボソームにおけるタンパク質の翻訳反応の素過程の解明に有用であることを示している。

なお、本論文第 3 章および第 4 章は、鈴木 勉、花田 孝雄、渡辺 公綱との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分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（生命科学）の学位を授与できると認める。