

## 審査の結果の要旨

氏名 船越 祐司

生物において蛋白質合成の鋳型として機能する mRNA は、一定の翻訳を終えると速やかに分解される。このような翻訳と mRNA 分解の共役は蛋白質を過不足なく合成する上で合理的であり、そのメカニズムを解明することは、遺伝子発現の調節機構を理解する上で重要である。G 蛋白質 eRF3 は翻訳において終結反応を仲介するが、さらに、その N 末端領域を介して poly(A) 鎖に結合する poly(A) 結合蛋白質 PABP に結合し、mRNA 分解の律速段階である poly(A) 鎖分解を制御している。このような正常な mRNA 分解の機構に加えて、異常な mRNA を積極的に除去する監視機構に、翻訳領域中にナンセンス変異等による終止コドン(PTC)が挿入した mRNA を急速に分解する NMD (Nonsense-mediated mRNA decay) と、終止コドンの存在しない mRNA を急速に分解する Non-stop decay が存在する。「翻訳終結反応と共役した mRNA 分解制御機構の解析」と題した本論文では、eRF3 と poly(A) 鎖分解の実体である脱アデニル化酵素との関連について出芽酵母を用いて解析し、これまで不明であった翻訳終結と poly(A) 鎖分解を結ぶ分子機構を明らかにしている。また、mRNA 監視機構と通常の mRNA 分解との対比から、eRF3 による mRNA 分解における終止コドンの役割について考察している。

### 1. eRF3 が制御する脱アデニル化酵素の同定

出芽酵母には、2 種の脱アデニル化酵素、Pan2-Pan3 (PAN) 複合体と Ccr4-Caf1 複合体が存在する。翻訳終結と共役した poly(A) 鎖分解機構における eRF3 と両酵素との関係を調べるために、eRF3 と PABP との結合を阻害しその機能を阻害する eRF3 の N 末端領域の過剰発現株、pan2 の破壊株、ccr4 の破壊株を作製した。まず、定常状態における poly(A) 鎖の比較を行ったところ、pan2 破壊株、eRF3 N 末過剰発現株では、通常よりも長い poly(A) 鎖の蓄積がみられ、両者はよく似た表現型を示した。一方、ccr4 破壊株はこれらとは明らかに異なる表現型を示した。この結果は、eRF3 が主に PAN 複合体に作用していることを示している。

次に、poly(A) 鎖分解の速度について解析を行った。その結果、野生株と比較して eRF3 N 末過剰発現株と ccr4 破壊株において、poly(A) 鎖の分解が抑制されていた。しかしながら、pan2 破壊株では、定常状態において poly(A) 鎖に異常がみられたにもかかわらず、野生株と比較して poly(A) 鎖の分解速度に顕著な差は認められなかった。この Pan2 破壊株に対し、eRF3 の N 末を過剰発現させたところ、poly(A) 鎖分解の抑

制がみられた。これは、eRF3 の N 末過剰発現によって、もう一方の脱アデニル化酵素 Ccr4-Caf1 が阻害されたためと考えられる。以上の解析から、eRF3 は Pan2-Pan 複合体と Ccr4-Caf1 複合体の両者を制御していることが明らかとなった。

## 2. mRNA 監視機構への eRF3 の関与の検討

NMD 及び Non-stop decay は、ともに通常の mRNA 分解とは独立した経路で急速に mRNA を分解するが、翻訳と密接に関連しており、また、終止コドンが分解の鍵となる点では共通している。そこで、両分解経路への eRF3 の関与を検討した。NMD では、以前より知られていた poly(A) 鎖分解非依存の 5' → 3' 方向の分解促進に加え、最近、poly(A) 鎖分解の促進とそれに続く 3' → 5' 方向の分解が促進していることが示されている。このことから、通常の mRNA 分解同様、PTC から poly(A) 鎖分解をつなぐ機構の存在が示唆される。そこで、5' → 3' 方向の分解を停止した酵母株を用いることで、3' → 5' 方向の NMD への eRF3 の関与を検討した。その結果、eRF3 の N 末端領域の変異体では、PTC をもつ mRNA の分解が抑制されていた。これは 3' → 5' 方向の NMD にも eRF3 の N 末端領域が関与することを示しており、NMD においても eRF3 を介した mRNA 分解機構が機能していることが示唆された。次に、Non-stop decay における eRF3 の関与を検討した。終止コドンの存在しない Luciferase mRNA 発現ベクターを作製し、eRF3 の温度感受性変異株に導入しその mRNA 分解を解析した。その結果、この酵母株では Non-stop decay に異常は認められなかった。これより、eRF3 を介した mRNA 分解は Non-stop decay には関与しないことが示された。

以上より、eRF3 は通常の mRNA における終止コドン、および、NMD における異常な終止コドンのいずれにおいても、終結反応と mRNA 分解を共役させる因子として機能し、一方で、終止コドンの存在しない mRNA 分解には関与せず、eRF3 は終止コドンに起因する mRNA 分解において機能することが明らかとなった。

本研究は、eRF3 が、機能的に異なる 2 種の脱アデニル化酵素、Pan2-Pan3 (PAN) 複合体と Ccr4-Caf1 複合体を制御していることを明らかにし、翻訳終結と poly(A) 鎖分解を結ぶ分子機構を提唱している。また、mRNA 監視機構の解析から、eRF3 は終止コドンに起因する mRNA の分解において機能することを明らかにしている。これらの研究成果は、翻訳終結と mRNA 分解の共役という新たな遺伝子発現調節機構の解明に重要な知見を提供しており、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。