

論文審査の結果の要旨

氏名 小玉 裕之

本論文は、真核生物のタンパク質合成において、翻訳終結のペプチド鎖解離反応を促進する GTP 結合性タンパク質、eRF3 の機能制御機構を解析したものである。解析手段として出芽酵母における遺伝学的手法を用い、主に eRF3 との結合因子群、そして eRF3 のアミノ末端側に存在する機能未知領域 (NED) の解析を行なった。本論文の解析結果は二部から構成され、それぞれ以下の内容について述べられている。

第一部 新規に構築した eRF3 機能評価系による結合因子の作用検証

本論文では、*in vivo* における eRF3 機能の多角的な検証を実現するため、出芽酵母の eRF3 高温感受性変異体 (eRF3ts) を用い、その発現量を調整することで、高温感受性の異なる評価株シリーズを作成し、生育から eRF3 の機能向上・低下を評価する、新たな系を構築した。eRF1 の過剰発現が、評価株シリーズの高温条件での致死性を抑制することから、結合因子による eRF3 機能向上の検出系としての有効性を確認した。

構築した系を用い、既知の eRF3 結合因子による eRF3 機能への影響を評価した結果、機能未知因子 Itt1 の過剰発現、および細胞骨格因子 Sla1 の欠失により、eRF3 の機能が低下することが明らかとなった。

Itt1、Sla1 はいずれも eRF3 の機能未知領域、NED との結合因子であることから、NED による eRF3 機能への影響を検証したところ、eRF3ts では NED が機能、およびタンパク質安定性維持に必須であることが明らかとなった。

一連の解析から、*Sla1*、および *Itt1* が eRF3 の機能制御因子であること、そして NED が eRF3 タンパク質の安定化に機能することが示唆された。

第二部 *Itt1* および *Sla1* による eRF3 タンパク質安定性制御

次に、結合因子による eRF3 機能低下の分子機構を明らかにするため、eRF3ts タンパク質の安定性を、定量解析より評価した。その結果、評価株の生育が低下した *Itt1* 過剰発現、*sla1* 欠失の両条件下では、いずれも細胞内で eRF3ts タンパク質存在量が低下しており、タンパク質の安定性低下が機能低下の主要因であることが示された。

Sla1 の発現による eRF3 タンパク質の安定性維持は、野生型 eRF3 タンパク質においても検出され、その一般性が示された。一方、*Itt1* の発現による野生型 eRF3 への影響は検出されなかった。

Itt1 は eRF3ts タンパク質の分解を促進していることが予測されたため、*Itt1* とタンパク質分解系の関与を検証する目的で、主要なタンパク質分解経路の因子群を評価株より欠失させ、*Itt1* 過剰発現下による生育を評価した。その結果、液胞プロテアーゼの遺伝子破壊により、評価株は *Itt1* 発現下での生育を維持した。この結果より、eRF3ts は *Itt1* によりタンパク質分解経路への移行が促進されていることが明らかとなった。

さらに、*Itt1* のヒトオースログについて、構築した系により eRF3 への作用検証を行なったところ、*Itt1* と同様に eRF3 の機能低下、eRF3ts の分解促進に機能することが明らかとなり、TRIAD/RING タンパク質による eRF3 機能制御は、真核生物に保存されていることが示唆された。ただし、野生型 eRF3 では *Itt1* による顕著な分解促進は検出されないことから、*Itt1* との相互作用による eRF3 の機能構造の変化が、eRF3ts を用いることで安定性変化として検出されたことも考

えられる。

以上より、NED は種々の生理活性因子との結合により、eRF3 の機能を制御する領域であると結論した。

考察および本研究の意義

本研究の結果は、機能未知であった NED が eRF3 機能制御の主要な領域であることを示している。すなわち、Itt1、Slal など、翻訳反応自体に必須ではない種々の生理活性因子との NED を介した相互作用により、eRF3 の機能が正負に制御されることが明らかとなった。翻訳終結は、NMD やリコーディングなどの高次機構と共役することから、それらの機能が様々な生理条件により制御されることを強く示唆する点で意義深い。

また、本研究で構築した eRF3 機能評価系は、ナンセンスサプレッション法の問題点を補完し、eRF3 自身の機能と翻訳終結効率とを明確に分けた解析を可能とした。本解析系を翻訳終結関連因子の解析、スクリーニングの新たな手法として用いることで、さらなる翻訳終結の制御機構解明が期待される。

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って解析、および検証を行なったもので、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。