

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 賈 龍澤

本論文では、超好熱性古細菌 *Pyrococcus horikoshii* OT3 由来の Dim2p および Dim2p/eIF2 α /rRNA 複合体の X 線結晶構造解析を行い、古細菌の 16S リボソーム RNA の成熟と翻訳開始における Dim2p と eIF2 α の役割について述べている。本論文は第一章の序論、第五章の結論を含む全 5 章からなる。

第一章では、これまでに知られている Dim2p と eIF2 α の機能が説明されている。また、Dim2p によるリボソーム RNA のプロセッシングの機構が明らかにされていないことを説明し、リボソーム RNA の成熟から翻訳開始までの過程が未知であることも説明している。そして、研究の目的が、古細菌の 16S リボソーム RNA の成熟と翻訳開始における Dim2p と eIF2 の役割を構造学的見地から解明することとしている。

第二章の内容：古細菌 *P. horikoshii* OT3 由来の 16S リボソーム RNA の成熟に関わる蛋白質 Dim2p (PH-Dim2p) の結晶構造 (分解能 2.3 Å) を決定した。PH-Dim2p が 2 つの KH ドメインをもつことが確認され、ドメイン間に多くの相互作用が見られた。この相互作用が KH ドメインの特徴的な空間配置を実現し、これによって KH ドメインには正電荷に富んだ溝が形成されていた。既知の KH ドメインと RNA の複合体の結晶構造を参考にして、PH-Dim2p と RNA の相互作用がこの正電荷に富んだ溝において起こることを予想した。

第三章の内容：古細菌 *P. horikoshii* OT3 由来の Dim2p の生化学的機能に関する実験と考察をおこなった。過去の報告から、Dim2p が直接 16S リボソーム RNA 前駆体と相互作用すると考えられるが、*in vitro* の結合実験により、PH-Dim2p と 16S リボソーム RNA が実際に相互作用することが示された。また、酵母由来の Dim2p と Rio2p (タンパク質キナーゼ) は相互作用することが知られているが、同様に *P. horikoshii* OT3 由来の Dim2p と Rio2p (PH-Dim2p と PH-Rio2p) の間にも相互作用があることが示された。具体的には、*in vitro* の実験により、

PH-Dim2p が PH-Rio2p のリン酸化（基質は PH-eIF2alpha）と自己リン酸化を促進することを発見した。Rio2p は自己リン酸化（リン酸化部位は複数）によって活性型となり、eIF2alpha をリン酸化することがすでに知られていたが、PH-Rio2p の自己リン酸化部位のひとつである Ser138 を Ala に置換することで、他の部位で起こる自己リン酸化能を阻害することなく、PH-eIF2alpha をリン酸化する活性のみがなくなることを示した。これにより、PH-Rio2p が PH-eIF2alpha をリン酸化する活性に Ser138 が必須であることが示された。

第四章の内容：古細菌 *Pyrococcus horikoshii* OT3 由来の Dim2p/eIF2alpha/rRNA 複合体の結晶構造（分解能 2.8 Å）を決定した。Dim2p/eIF2alpha/rRNA 複合体の立体構造が報告されたのは世界で初めてである。結晶構造から Dim2p が結合する ssRNA の塩基配列が決定され、これによって Dim2p が 16S リボソーム RNA の 3'末端に結合することが示された。また、PH-Dim2p の 2つの KH ドメインは認識・結合する塩基配列が全く異なり（KH-1 ドメインは anti-SD 配列に特異的に結合）、Dim2p 全体で一つの配列特異性を実現していることも示された。この結果から、PH-Dim2p の役割が、特定の塩基配列の認識と 3'末端の保護であることを提唱した。翻訳が開始されるためには eIF2alpha が Dim2p から解離する必要がある。構造既知の eIF2alpha/eIF2gamma 複合体と Dim2p/eIF2alpha/rRNA 複合体の比較により、eIF2alpha 解離のモデルを提唱した。すなわち、eIF2gamma が Dim2p/eIF2alpha/rRNA 複合体に含まれる eIF2alpha に結合することで、eIF2alpha の C 末端ドメインと N 末端ドメインの相対的な位置が変化し、eIF2alpha と PH-Dim2p の間の特異的な相互作用が弱まり、解離するというモデルである。このことから、16S リボソーム RNA が成熟した後、Dim2p と eIF2 が協同的にはたらき、翻訳開始の類型（leaderless mRNA の翻訳か、polycistronic mRNA の翻訳か）を選択することを提唱した。

以上、本研究で得られた知見は、学術的に大いに貢献するところである。よって、審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として十分な価値のあるものであると認めた。