

論文審査の結果の要旨

氏名 薦田 多恵子

リボソームは全ての生物に共通する RNA・蛋白質超分子複合体であり、大小二つのサブユニットから構成される。リボソームは蛋白質翻訳の際、mRNA 上を下流へ移動しながら遺伝情報を解読する。ペプチド転移反応後に、2つの tRNA が mRNA と共に隣のサイトへと移動する転座反応が進行する。伸長因子 EF-G がリボソームとの相互作用により GTP を加水分解して引き起こす構造変化が、この転座反応の原動力と考えられている。また、転座反応時に小サブユニットは大サブユニットに対して 6 度回転する歯止め装置様の動き(ratchet-like rotation)をする事が知られる。両サブユニット間の相互作用には rRNA の保存領域の関与が知られているが、これらの詳細な役割については不明な点が多く残されている。

大サブユニット 23S rRNA 上のヘリックス 38 (H38)は、原核生物、真核生物に広く保存され、cryo 電子顕微鏡での解析により、A サイト近傍で突起状の構造をとることから、A site finger (ASF)と呼ばれる。H38 は翻訳過程全体を通し A サイト tRNA と相互作用している。また、小サブユニット蛋白質 S13 と相互作用して bridge B1a というサブユニット間連結部位を構成する。bridge B1a は ratchet-like rotation において位置を大きく変え、転座反応後には S13 ではなく S19 蛋白質と H38 とで形成される。

これまでに H38 の機能的な役割について解析した例はなく、本研究では翻訳過程における H38 の役割を解明することを目的とし、ヘリックス 38 の長さを短縮化した変異体を作成し、機能解析を行った。

本論文は序論と 2 章と結論からなり、第 1 章では大サブユニット 23S rRNA 上の H38 短縮化変異体を用いた機能解析について述べている。H38 短縮化大腸菌株は正常な生育速度を示したが、翻訳精度の測定を行った結果、野生型(WT)と比較して+1 フレームシフトの頻度が上がることが判明した。また、H38 短縮化リボソームのサブユニット会合能は WT と同等で、H38 が形成する bridge B1a はサブユニット間会合にはさほど重要ではないことが明らかとなった。一方、予想に反し、低 EF-G 濃度下において WT と比較して高い翻訳活性を有する事が明らかになった。

また、リボソームによる EF-G の GTPase 活性化反応において、H38 短縮化リボソームは WT と比較して高い GTPase 活性化を起こすことから、H38 の短縮により EF-G が活性化されやすくなり、低 EF-G 濃度において高い翻訳活性を持つという結果をうまく説明することができる。さらに、H38 短縮化リボソームは、シングルラウンドの転座反応において、WT より高い活性を持つ事が示された。

以上の結果から、リボソームが本来有する転座反応の能力は通常 WT において観察されるよりも速く、H38 は、転座反応を負に制御する働きを担うことを示唆している。H38 は転座反応をコントロールすることによって結果的に+1 フレームシフトを抑え、翻訳

精度が維持されていると考えることができる。

第 2 章では、小サブユニット 16S rRNA 上のヘリックス 33 欠失変異体を用いた機能解析について述べている。30S サブユニットのヘリックス 33(h33)は立体構造上で nose と呼ばれる部分を構成する。cryo 電子顕微鏡を用い、h33 欠失リボソームの立体構造を解析したところ、h33 の欠失により、H38 との相互作用部位である bridge B1a が外れていることが判明した。そこで、h33 欠損リボソームの翻訳活性を調べたところ、H38 短縮化リボソームと同様に翻訳活性の上昇が観測された。この結果は、H38 短縮化リボソームの解析から示された bridge B1a の翻訳における役割を、より明確にするものであると考えている。

以上のように本論文では、蛋白質翻訳装置であるリボソームによる転座反応において、リボソーム RNA 上の保存された構造である H38 の長さを短縮化した変異体の機能解析によって、H38 の担う働き的一端を解明する事に成功している。また、h33 を欠失した変異体の機能解析から上記の働きをより明快に裏付ける結果を得ており、これらの知見は転座反応の理解に大きく貢献するものである。また、これらの知見から、転座反応と翻訳精度を関係付けるという斬新な仮説を提示するにいたり、リボソームの複雑で巧妙な機能を理解していく上で意義のある研究成果である。

なお、本論文第 1 章は、S. S. Phelps 博士らとの共同研究であるが、論文提出者が主体となって研究を行ったもので、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。