

審査の結果の要旨

氏名 長尾 翌手可

本研究は、哺乳動物ミトコンドリア翻訳系における tRNA のアミノシル化精度維持機構の解明を行ったものであり、また、本研究を通して得られた知見に基づき動物ミトコンドリア tRNA 群特有にみられる tRNA 構造の異常性、多様性の原因を探求するものである。

tRNAのアミノアシル化はアミノアシルtRNA合成酵素 (aaRS) によって行われ、その精度はそれぞれのaaRS認識に必要なtRNA上の特徴的な塩基配列や高次構造 (tRNAアイデンティティ) によって支配されていると考えられてきた。しかし、哺乳動物ミトコンドリアtRNAは通常のtRNAとは逸脱した構造を持っており、特に生物間で高度に保存されているTループ塩基配列が多様化していることや、個々のtRNAアイデンティティの保存性も低いことが知られている。また、当研究室の先行研究により、哺乳動物ミトコンドリアSerRSがtRNA^{Gln}をミスセリル化することが判明した。これらの知見から提出者は哺乳動物ミトコンドリア翻訳系ではtRNAアイデンティティが弱体化している可能性を指摘し、それを補う翻訳精度維持機構の存在を考えた。まず、本研究では、①aaRS同士が基質となるtRNAに対して競争的に反応し、正しい反応の反応速度が大きいために優先的に正しいアミノアシルtRNAが作られるといったaaRS-tRNAネットワークにおける反応速度論的識別機構、②aaRS-tRNAネットワークを潜り抜けたミスアミノアシル化tRNAを伸長因子EF-Tuが排除するといったEF-Tuによるフィルターリング機構という二つの連動する機構によって翻訳精度維持を達成しているという概念を提唱し、実証することを第一の目的としており、それらを通して初期の真核生物から哺乳動物に至るまでのミトコンドリアtRNA構造の変化と翻訳精度維持機構の関連性を解明することを第二の目的としている。

まず、本論第一章では、哺乳動物ミトコンドリア翻訳系において実際に tRNA アイデンティティが弱体化している論拠を示すために、aaRS として 8 種類のヒトミトコンドリア aaRS の組み換え体を、tRNA として全 22 種類の野生型ウシミトコンドリア tRNA を用いて *in vitro* 実験系で網羅的なミスアミノアシル化反応の探索を行っている。その結果、5 種類の aaRS について 7 パターンの有意なミスアミノアシル化反応が観察され、哺乳動物ミトコンドリア tRNA アイデンティティの弱体化を示唆することができている。

第二章では、第一章にみられたミスアミノアシル化反応が反応速度論的に翻訳系から排除されるものであることを示すために、正しいアミノアシル化反応とミスアミノアシル化反応の反応速度論的パラメーターを測定し比較している。その結果、ミスアミノアシル化反応は非常に低効率であり、反応速度論的識別機構によって翻訳系から排除できるものであ

ることを実証した。また、第三章では、ウシミトコンドリア EF-Tu を使ったアミノアシル tRNA 加水分解プロテクションアッセイを用いて、第一章でみられたミスアミノアシル tRNA の EF-Tu との結合能を評価し、EF-Tu フィルターリングの検証を行っている。その結果、ミスアミノアシル tRNA^{Gln} は全て EF-Tu との結合能が低く EF-Tu フィルターリング機構の存在を示唆することに成功した。ここまでの経緯から、提出者は tRNA アイデンティティが弱体化した哺乳動物ミトコンドリア翻訳系では、反応速度論的識別機構と EF-Tu フィルターリング機構によって翻訳精度が保たれることを実証したと考えられる。また、提出者は生物間において tRNA の T ループ構造は高度に保存されているのに対し、哺乳動物ミトコンドリアでは多様化していることに注目し、哺乳動物ミトコンドリア SerRS が T ループを認識することから、その原因は SerRS による誤認識を避けるためであると考へた。しかし、tRNA^{Gln} が例外的に tRNA^{Ser} と同様に T ループに保存配列を保持していたため、第四章では哺乳動物ミトコンドリア翻訳系における Gln-tRNA^{Gln} 生合成機構について解析し、このことについて生物学的意義を探究した。自然界には Gln-tRNA^{Gln} 生合成経路は GlnRS が直接行う経路とアミドトランスフェラーゼ (AdT) を介す経路があることが知られているが、解析の結果、哺乳動物ミトコンドリアでは後者の経路によって Gln-tRNA^{Gln} 生合成を行っていることが証明され、tRNA^{Gln} にみられる T ループの配列保存性は AdT による認識への必要性であることを示唆している。そして、最終的な考察では、本研究で得られた結果に基づき、ミトコンドリアにおける tRNA の構造変化と翻訳精度維持機構の関連性を進化的な観点から論じており、今まで未解明であった動物ミトコンドリア tRNA の異常構造の原因についての洞察を展開している。なお、以上の研究成果は、論文提出者が主体となって行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。よって本論文は博士 (工学) の学位請求論文として合格と認められる。