

論文審査の結果の要旨

氏名 渡 辺 裕 也

本論文は、原核生物のタンパク質合成反応の終結過程でクラス I ペプチド鎖解離因子をリサイクルする機能に加え、伸長過程でペプチジル tRNA ドロップオフ反応を促進する機能という異なる翻訳過程での反応を触媒する GTP 結合性翻訳因子 RF3 の機能制御機構を解析したものである。RF3 は翻訳 GTPase ファミリーの中で機能部位の解析が立ち遅れており、本学位論文で記述された遺伝学的手法による責任アミノ酸残基部位の同定は今後の RF3 機能研究において重要な知見となる。本論文は 4 章から構成されており、それぞれ以下の内容について述べられている。

第一章は序論であり、翻訳因子 RF3 研究の歴史的背景、原核生物及び真核生物の翻訳終結系の相違点や、他の翻訳 GTPase に関する知見などが述べられている。一般的な翻訳 GTPase が GTP 結合型の活性状態でリボソームに結合する一方で、終結反応において RF3 は例外的に GDP 結合型でリボソームに結合することが示されている。しかし、論文提出者は GTP 結合型 RF3 が高いリボソーム親和性を示すという事実や、分子進化上 RF3 の近縁種である EF-G に関して、ヒトミトコンドリア EF-G の一つである転座型 EF-G (EF-G1mt) との高い相同性などから、RF3 が、GTP モードでリボソームに結合する典型的な反応様式も備えていると推測した。RF3 が翻訳終結と翻訳伸長反応時のリボソームの状態を異なるヌクレオチド結合フォームで識別し、別個の機能性をするという興味深い考察である。

第 2 章は実験結果について述べられている。論文提出者は、遺伝学的に RF3 を解析する指標として、それまでに解析が難航していた解離因子リサイクル活性ではなく、ペプチジル tRNA ドロップオフ反応促進活性を指標として採用することを着想した。そのため、ドロップオフの促進遺伝子を人工的に発現調節することで、検出感度の閾値の自在な調節が可能となった簡便で再現性の高いドロップオフ反応検出系を作製し、変異体の分離を実施した。その結果、ドロップオフ反応を促進する内在性の野生型 RF3 と競合し、ドロップオフ反応を優性的に阻害する変異体群（ドロップオフ優性阻害変異体（drop-off dominant-inhibitory mutants, DDI 変異体 RF3）と命名）の 41 残基 42 個の単

変異の分離に成功した。次に、これらの DDI 変異体のそれぞれについて、RF3 のもう一つの機能である翻訳終結活性を測定し、ドロップオフ機能との関係性の解明を試みた。その結果、G ドメインのグアニンヌクレオチド結合部位の変異は、ドロップオフ機能の欠損とは対照的に、翻訳終結活性を向上させることが判明した。この結果は、G ドメインに結合するグアニンヌクレオチドの結合モード毎に異なる機能性が発揮されることを示唆する。また、ドメイン II-III の DDI 変異の解析により、複合体の構造解析から 30S リボソームとの相互作用に関わることが判明しているこの領域が、G ドメインと連動して機能の切り替え制御に関わることが示されている。これまでの翻訳終結活性を指標とした RF3 の遺伝学解析とは異なり、ドロップオフ機能を指標とすることで RF3 の機能構造の解明に大きく貢献したといえる。

第三章では結果に関する考察が述べられている。他の翻訳 GTPase 因子で明らかになっているアミノ酸残基部位と、DDI 変異部位との詳細な比較が試みられている。G ドメインの DDI 変異によって、GTP 結合状態が不安定化することが強く示唆され、ドロップオフ反応阻害と相反しておこる翻訳終結反応促進が、GTP 結合モードの不安定化で説明出来る事が議論されている。また、ドメイン II-III の寄与モデルや各 DDI 変異体の阻害メカニズム、ドロップオフ機構についての多角的な考察が為されている。これら議論をふまえ、RF3 の機能メカニズムとして G ドメインのグアニンヌクレオチドモードによるデュアル機能スイッチ機構モデルを提唱した。従来、翻訳 GTPase の GDP 結合型は反応終結後の不活性な状態とのみ認識されており、結合するヌクレオチドによって基質認識を制御する概念は全く新しいものである。リボソームの異なる状態に対応した機能性を発揮する多様な翻訳 GTPase が知られてきており、本モデルは、多機能性発揮の分子メカニズムを議論する上でも今後重要性を増して行くものと思われる。

最後の第 4 章には実験方法について述べられている。本学位論文の実験素材と手法に関する詳細が全て網羅されている。

なお、本論文第二章は、中村 義一・伊藤 耕一との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので、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（理学）の学位を授与できると認める。