

論文審査の結果の要旨

氏名 野澤佳世

本論文は全七章から構成され、終止コドンにコードされるピロリジンの翻訳を担う PylRS・tRNA^{Pyl}複合体と tRNA の核外輸送に関係する因子、Cex1p の構造機能解析について述べられている。第一章は、全体のイントロダクションであり、第二章では、酵素 PylRS の大腸菌での発現系の構築とその X 線結晶構造解析について述べられている。第三章では、*in vitro* 転写法を用いた tRNA^{Pyl}の調製と、PylRS・tRNA^{Pyl}複合体の結晶化、構造解析について述べられており、第四章では、PylRS の生体内・生体外におけるアミノ酸付加活性の検証実験について記述されている。第五章からは、Cex1p に関する研究が記述されており、本章では Cex1p のプロテアーゼによる限定分解や変異体調製、ゲル中での結晶化など、構造決定に至るまでの数々の結晶化トライアルについて述べられている。第六章では、Cex1p 変異体に対する tRNA のゲルシフトアッセイや X 線小角散乱による Cex1p・tRNA 複合体の溶液構造の決定など、Cex1p の tRNA 認識機構に関する生化学実験が書かれている。そして、最終章である第七章では、構造解析の知見と先行研究をもとに行われた PylRS の進化に関する考察と tRNA のアミノアシル化に依存した Cex1p の機能の考察が記述されていた。本研究では生命の設計図、遺伝子 DNA からタンパク質が作られる営みの中で終止コドンを読み替えることができる PylRS・tRNA^{Pyl}複合体の分子構造を可視化している。特に、この tRNA^{Pyl} は終止コドン翻訳のためにその配列が他のアミノ酸に対する tRNA と著しく異なっており、本研究により初めて、その特殊な tRNA の三次構造が明らかとなった。また近年、この PylRS・tRNA^{Pyl}複合体を用いて遺伝暗号を終止コドンに拡張し、非天然アミノ酸を人工タンパク質に組み込む試みがなされており、こうしたタンパク質工学においても、この成果は大きな手助けになるものと期待される。一方、真核生物において tRNA は段階的にプロセシングを受けて成熟し、最終的にアミノ酸の付加を受けて細胞質の翻訳系に運ばれるが、Cex1p はこの過程で tRNA のアミノ酸の有無を見極め、核外輸送とカップルさせるセンサーとして働く。こうした tRNA の核外輸送は翻訳効率を制御し、細胞の恒常性を維持するために非常に重要な機構である。加えて、高等真核生物における Cex1p ホモログはテロメラーゼの発現制御や脳神経タンパク質のネットワーク形成等に関わる構造未知の因子である。以上のようなメカニズムの解明において、本研究で得られた構造生物学的知見は価値ある知見をもたらすものと期待される。

なお、本論文の第四章は、Yale 大学 Dieter Söll 教授との共同研究であるが、論文提出者が主体となって実験のストラタジーを考え、サンプルを調製し、データの解析を行ったもので、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。