

論文内容の要旨

論文題目 UAG コドン再定義における翻訳的要因の解明

(A study on the translational factor in the UAG-codon reassignment)

氏名 大竹 和正

大腸菌からヒトに至るまで、真正細菌、古細菌、真核生物を通じてほぼ全ての生物種は基本的に共通した遺伝暗号を用いており、この遺伝暗号を「普遍」遺伝暗号と呼ぶ。普遍遺伝暗号は全ての生物の祖先において確立したものと考えられ、ミトコンドリアやいくつかの生物における少数の例外を除いて何十億年にわたって不変である。これらの普遍遺伝暗号からの逸脱は、生物の進化過程の中で1万年以上の時をかけて発生した。このような非標準遺伝暗号の出現を説明する二つの仮説が存在するが、どちらのシナリオにおいてもコドンの再定義が起こる以前にゲノム中に多数の変異が蓄積することが想定されている。当研究室では、大腸菌において翻訳終結因子 RF-1 をコードする *prfA* 遺伝子をノックアウトすることにより、大腸菌の UAG アンバー終止コドンセンスコドンに再定義したことを報告している。この大腸菌株を RFzero 株と呼ぶ。UAG コドン認識し翻訳を終結する RF-1 は必須の細胞構成要素であり、通常その遺伝子破壊は致死である。7つの必須遺伝子末端の UAG 終止コドンを UAA 終止コドンへと置換し、UAG コドンを翻訳する転移リボ核酸(tRNA)を発

現することにより, RFzero 株のゲノム中の約 300 遺伝子の末端には UAG コドンがそのまま残されているにも関わらず RF-1 のノックアウトが可能になる. しかしながら, これらの UAG コドンの翻訳が大腸菌の増殖に与える影響は明らかにされていなかった.

大腸菌グルタミンアンバーサプレッサー-tRNA (*supE*) の変異体ライブラリーを作製し, UAG コドンを通常のグルタミンコドンと遜色ない高効率で翻訳する tRNA 変異体 *supE3* の単離に成功した. *supE3* を導入して RFzero 株を作成したところ, この RFzero-q3 株は他の RFzero 株に比べてよく増殖し, 親株に匹敵する増殖速度を示した. RFzero-q3 株では UAG コドンを越えてタンパク質の C 末端が延長されることが確認された. このように延長されたタンパク質が活性を維持しており, これらのタンパク質の高発現が増殖に良い影響を与えることが明らかとなった. UAG コドンの翻訳効率の低い RFzero 株ではリボソームが UAG コドンの位置で停滞していると考えられ, この問題は UAG コドンの翻訳効率の増加によって解消されていた. また, 複数の大腸菌株のゲノム解析によって, UAG 終止コドンのすぐ下流には 2 番目の UAG 以外の終止コドンがバックアップとして現れ, タンパク質の C 末端の延長がランダムに終止コドンが現れる場合に比べて短く抑えられているという UAA 終止コドンや UGA 終止コドンには見られない特徴が明らかとなった. このように大腸菌の UAG コドンと次の終止コドンの染色体上の分布は, UAG コドンの再定義にすでに適応する方向に進んでいると考えられ, 本研究はコドンの再定義とそれに伴うゲノムの進化に関する研究の新しい方向性を示した.