

審査の結果の要旨

氏名 石黒 健介

本研究は、大腸菌において細胞内の *S*-adenosyl-methionine (AdoMet)濃度が rRNA のメチル化修飾を介してリボソームの生合成過程を制御し、細胞の生育を外部環境に応じて制御する機構の解明を目指したものである。さらに研究過程において AdoMet 濃度によって活性の制御を受ける RNA helicase を発見し、そのリボソーム生合成への関与を調べた。また、大腸菌以外の生物でもこの制御機構が保存されているかについても研究を行った。

AdoMet は細胞内の主要なメチル基供与体であり、DNA、RNA、タンパク質などのメチル化や低分子代謝物の生合成を通じて様々な細胞内プロセスに関与する。AdoMet 濃度の変化はこれらのメチル化修飾率の変動を通じて細胞の増殖や分化に影響を与え、様々な疾患の原因になっていることが知られている。また、AdoMet 濃度の変化はリボソームの生合成過程に大きな影響を与えることが知られていたが、その詳細な機構は未解明であった。

リボソームはリボソーム RNA(rRNA)とリボソームタンパク質(r-protein)からなる超分子複合体であり、翻訳過程において、mRNA 上の遺伝情報をタンパク質へと変換する役割を担っている。リボソームの生合成にはアッセムブリー因子と総称される多様な酵素が関与し、細胞のおかれた生育環境にตอบสนองしてリボソームの生合成を制御していると考えられている。細胞内におけるリボソームの濃度は細胞の様々なプロセスに影響を与えることが知られており、その制御機構の解明は生命活動の根幹に関わる極めて重要な研究対象である。しかし、リボソーム生合成過程がどのように制御されるかは依然として未解明の部分が多い。本研究では、大腸菌におけるリボソーム大サブユニット(50S)の生合成後期過程に注目した。

大腸菌における 50S の生合成後期過程には RNA Helicase (DbpA)、GTPase (ObgE,Der)、RNA メチル化修飾酵素(RlmE)などの様々なアッセムブリー因子が関与している。RlmE は AdoMet を基質とし、23S rRNA のペプチド転移反応活性中心(PTC)の Helix 92(H92)に位置する U2552 を 2'-O-メチル化(Um2552)修飾する。この *rlmE* を欠損した株(Δ *rlmE*)では 45S 前駆体と呼ばれる 50S サブユニットの中間体の蓄積が観察される。当研究室の先行研究により、RlmE による Um2552 の形成が 45S 前駆体から 50S への成熟過程を促進する役割を持つことが明らかとなっている。

第一章では細胞内 AdoMet 濃度がリボソームの生合成を制御する可能性について検討し、

その分子機構の詳細を解明することを目指した。その結果、細胞内 AdoMet 濃度の低下によって生育の悪化に加え 45S 前駆体の蓄積と、rRNA と tRNA におけるメチル化修飾率の減少が確認された。さらに、このうち Um2552 の修飾率の低下が 45S 前駆体の蓄積と生育の悪化の原因となっていることを突き止めた。これらの結果は、細胞内 AdoMet 濃度の変化を鋭敏に感知し、Um2552 のメチル化修飾率を介してリボソーム 50S サブユニットの生合成後期過程が制御される機能の存在を示唆している。さらに、50S 生合成後期過程に関与するほかのアッセムブリ因子がこの機構にどのように関与しているかを分析した。その結果、ObgE と Der は RlmE と独立して作用する一方で、DbpA は RlmE と同様に細胞内 AdoMet 濃度の影響を強く受けることが明らかとなった。

第二章では DbpA の機能の解明を目指した。DbpA は H92 を認識する RNA helicase であり、45S 前駆体を基質とし 50S 生合成後期過程に関与する。リコンビナントタンパク質として DbpA を単離し、*in vitro* において活性を調べたところ、DbpA が RlmE と競合的に基質 RNA を認識することが判明した。さらに、DbpA の活性は生理学的な AdoMet 濃度で阻害を受けることが判明した。そこで、DbpA が機能する生理学的な条件を調べたところ、DbpA は低温培養条件で発現し、細胞内 AdoMet 濃度が低下した際に機能することで、50S サブユニットの生合成を促進し、細胞の生育に貢献していることが明らかとなった。実際に、DbpA がどのような機構でリボソームの生合成に寄与するかについては、今後の研究課題とした。

第三章では、大腸菌以外の生物で AdoMet 濃度依存的なリボソーム生合成制御機構が保存されているかを検証した。本研究ではまず、RlmE を持たない枯草菌で AdoMet 枯渇がリボソーム生合成に与える影響を解析した。その結果、枯草菌においては AdoMet 枯渇下でも 45S 前駆体の蓄積がみられないことが判明した。さらに、DbpA の homolog とされていた YxiN も AdoMet に対する感受性を示さないことが分かった。これらの結果は、枯草菌において AdoMet 濃度依存的なリボソーム生合成制御機構が存在しないことを示している。さらに、総合考察において真核生物でこの制御機構が保存されているかを検証した。その結果、真核生物においても Um2552 を介したリボソームの成熟機構が保存されている可能性が高いことが分かった。このことは、真核生物でも Um2552 を介した AdoMet 依存的なリボソーム生合成制御機構が保存されている可能性を示している。

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。