

論文審査の結果の要旨

氏名 堀川 航

本論文は、翻訳伸長因子ホモログ Ski7 の機能解析についての結果と考察を含む研究論文であり 6 章から構成されている。第 1 章は本研究の背景に関して述べられており、第 2 章には本研究で用いられた実験材料と実験手法、第 3 章には本研究で考案された分子遺伝学的選択系の構築について、およびそれらを用いた変異体分離実験および、それぞれの変異体を用いた機能解析実験結果、第 4 章にはその考察、第 5 章には展望が述べられており、第 6 章には参考文献が記載されている。審査結果の要旨は以下の通りである。

Ski7 タンパク質は、出芽酵母を中心に保存され、mRNA 翻訳過程における Non-Stop mRNA Decay (=NSD) などの品質管理機構の制御因子であることが指摘されている。Ski7 は、eEF1 α などの翻訳 G タンパク質ファミリーの G ドメインとの類似性が高い C 末端領域と、ユニークな N 末端領域から構成されているが、N 末端側はエキソソーム複合体や Ski 複合体等と相互作用することが実験的に示唆されるものの、全領域中もっとも相同性の高いタンパク質グループの存在する C 末端領域については、欠失変異体の解析から NSD 機構そのものへの実質的寄与が無いことなどが提唱されていた。機能解明の重要性に比して Ski7 のアミノ酸残基レベルでの機能解析はその発見から 10 年以上も経つにも関わらず立ち後れた状況であった。

学位申請者は、Ski7 タンパク質の詳細な機能解明を行うために、NSD における機能欠損などを引き起こす変異体の分離により、機能に必須なアミノ酸残基の特定を行うことが不可欠と考え研究を開始した。

最初に Ski7 の機能性を酵母株の生育を指標として簡便に検出するための酵母 NSD アッセイ株の作成を行った。次に、この NSD アッセイ株を用い、Ski7 固有の保存モチーフが存在する N 末端領域には網羅的なアラニン残基導入による変異体の機能解析を行うことで、重要残基 Phe-203 を見いだすことに成功した。一方、C 末端領域の典型的な G ドメイン保存残基の変異体は、NSD アッセイ株で顕著な機能欠損を示さなかったため、Ski7 変異体発現プラスミド・ライブラリーを構築し、NSD アッセイ株を用いた Ski7 変異体の分離を試み、一連の変異体分離に成功した。C 末端領域の変異体はいずれも、野生型 Ski7 タンパク質存在下でもドミナント・ネガティブに NSD 機能低下を引き起こすことが判明した。また、これらの C 末端領域変異体を直前に報告されていた Ski7 および、先行研究で明らかにされていた伸長因子 EF1 α の X 線結晶構造上で図示したところ、ほとんどは G ドメインの GTP 結合領域に隣接する領域に集中して存在しており、GTP 加水分解性が実証されていないものの Ski7 の G ドメインが NSD 制御に密接に関わること

が示された。また、これらの変異体の組み合わせ解析などの結果も踏まえ、得られた変異体は、Ski7 タンパク質の NSD において、グアニンヌクレオチド結合モードと共役した制御モードをリボソーム上で凍結させるタイプのものであることが推測された。

得られた実験結果を踏まえ、C 末端側でのグアニンヌクレオチド結合モードとリボソーム上での機能性および、シスの領域である N 末端側でのエキソソーム複合体や Ski 複合体との分子間相互作用が共役する分子作用モデルを提唱している。

本論文は、Ski7 タンパク質上に初めて機能アミノ酸残基を同定したことに加え、翻訳 G タンパク質による新規な翻訳制御様式の存在を明らかにしたという点でも、関連領域に貢献する成果であると判断された。

なお、本論文は伊藤耕一、和田美紀、遠藤慧との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析およ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された。

したがって、審査員一同、博士（生命科学）の学位を授与できると認めた。

以上1601字