

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 酒 井 雄 介

tRNA は遺伝子発現の翻訳において、mRNA 上の遺伝暗号を解読し、対応するアミノ酸を導入するアダプター分子として働く。tRNA は前駆体として DNA から転写されたのち、様々な化学修飾を受けて成熟しその本来の機能を発揮する。特にアンチコドン 1 字目(wobble 位)には多様な修飾が存在し、アミノアシル tRNA 合成酵素による認識や正確なコドン認識において、重要な役割を担っている。

本論文では、バクテリアにおける tRNA の wobble 位に見られる 5-オキシウリジン修飾の生合成機構を解き明かし、この修飾がバクテリアの遺伝暗号解読にどのように寄与し、生理的にどのような意義があるのかを探究している。

序論ではまず、遺伝暗号解読についての一般的な概論と、研究対象である 5-メトキシカルボニルメトキシウリジン(mcmo⁵U)及び 5-カルボキシメトキシウリジン(cmo⁵U)の機能や生合成についての先行研究を要約し、本研究の目的を述べている。

第 1 章では、mcmo⁵U の末端メチル化の生合成と機能について研究を行っている。申請者は、大腸菌から 6 種類の tRNA を単離し、解析することで、mcmo⁵U と cmo⁵U が tRNA 種ごとに使い分けられていることを明らかにしている。また、tRNA^{Pro3} において生育相依存的な末端メチル化率の変動が見られることを見出している。さらに、mcmo⁵U の末端メチル化を行う新規の AdoMet 依存メチル基転移酵素 CmoM を同定し、メチル化の試験管内再構成に成功した。また、tRNA^{Ser1} において、マイナーではあるものの新規の修飾塩基である 5-メトキシカルボニルメトキシ-2'-O-メチルウリジン(mcmo⁵Um)を発見した。

第 2 章は、tRNA の wobble 位における 5-オキシウリジン修飾の開始段階であり、長らく未解明のままだった、5-ヒドロキシウリジン(ho⁵U)の生合成について研究を行っている。申請者は、研究室の先行研究で発見された新規遺伝子 *trhA*、と *trhO* について遺伝学および生化学的な解析を行ったところ、*trhA* が担うヒドロキシル化にはプレフェン酸を要求すること、*trhO* が担うヒドロキシル化には気相中の酸素分子を必要とすることを明らかにし、ho⁵U のヒドロキシル化は全く異なる二つの独立の経路で冗長的に行われていることを見出した。また、

枯草菌(*Bacillus subtilis*)に見られる 5-オキシウリジン誘導体である 5-メトキシウリジン(mo⁵U)を合成する新規 AdoMet 依存メチル基転移酵素 HouM を同定した。

第 3 章では、第 1 章及び第 2 章で同定した修飾に関する遺伝子の欠損株を解析し、5-オキシウリジン修飾の生理的な機能について解析を行っている。申請者は、cmo⁵U または mcmo⁵U を wobble に持つ tRNA と冗長にコドンを読解する tRNA(アイソアクセプター)を欠損させると、*trhA* と *trhO* の二重欠損株で顕著な温度感受性が観測されることを見出した。また、ルシフェラーゼレポーターを用いた解析により、cmo⁵U または mcmo⁵U の O5 は UCG コドンの読解効率に寄与することを明らかにした。さらに興味深いことに、*cmoB* 欠損株で ho⁵U を蓄積させたところ、ピリミジンで終わるコドンの読解に支障がある可能性があることを見出した。

「結論と展望」の章においては、まず「結論」として本論文の成果を簡潔にまとめ、次に「展望」として今後の研究の課題と展望を示している。第 2 章の成果より 5-オキシウリジン修飾がプレフェン酸及び酸素の細胞内濃度によって変動している可能性があること、第 3 章の成果より修飾を失うと G で終わるコドンの認識効率が低下することに言及し、wobble 修飾の変化による最適コドン頻度の変動を介してプレフェン酸や酸素の濃度に応答するグローバルな遺伝子発現制御機構が存在する可能性を論じている。

以上のように、申請者は、本論文を通してバクテリアの tRNA に広く見られる 5-オキシウリジン修飾の生合成機構を明らかにし、tRNA の修飾において一つの修飾を複数の独立した経路が冗長に行っていることを初めて見出した。更に、修飾遺伝子欠損株の解析を通して 5-オキシウリジン修飾の生理的意義を示すことに成功した。この知見は、tRNA 修飾の生合成機構を明らかにしただけでなく、バクテリアにおける遺伝子発現の調節機構の存在を示唆する成果である。

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。