

# 審査の結果の要旨

氏名 林 光

本論文は、真核細胞における翻訳伸長速度の調節機構とその生理的意義について理解を深めることを目指し、酵母における non-canonical な翻訳伸長制御因子 Stm1 の機能解析を行ったものである。

近年、翻訳伸長速度の調節が様々な細胞機能の制御に関わっていることが明らかにされており、その分子機構の解明は重要な研究課題となっている。真核細胞では2つの canonical な翻訳伸長因子(eEF1A と eEF2)の働きによって翻訳伸長反応が進む。一方、真核細胞に特異的に存在する non-canonical な翻訳伸長因子が翻訳速度を調節することも示唆されている。酵母の代表的な non-canonical な翻訳伸長因子としては、Stm1、eIF5A、eEF3 等が挙げられる。これらは翻訳伸長の毎サイクルには必要ではないが、特定のペプチド伸長反応を制御すると考えられている。

酵母 Stm1 は、真核細胞で広く保存されたおよそ 43kDa のリボソーム結合能をもつ蛋白質で、mRNA 分解や新生ペプチド鎖の品質管理機構、アポトーシスや細胞周期制御、栄養飢餓応答、など、様々な細胞機能に関与することが知られている。酵母抽出液を用いた *in vitro* 翻訳系による解析から、Stm1 が翻訳を抑制することが報告されている。Stm1 による翻訳抑制に伴い mRNA が 80S 開始複合体に蓄積することから、Stm1 は 80S 開始複合体形成過程より後の翻訳伸長過程を阻害すると考えられている。また、Stm1 欠損株では 80S に結合する eEF3 が増加すること、逆に Stm1 大量発現株において 80S に結合する eEF3 が減少することが示されている。このことから、Stm1 と eEF3 がリボソーム上で相補的に機能し、翻訳伸長過程を制御すると提唱されている。一方、リボソーム上の Stm1 の構造が報告されており、Stm1 が mRNA の結合部位を塞いでいることから、Stm1 がどのように翻訳伸長を制御するのか不明である。

従来 of 細胞を使った解析や抽出液を用いた解析では、内在性の Stm1 や共役する因子の影響を排除することができていない。そこで論文提出者は、はじめに酵母由来の再構築型無細胞翻訳系 (poly(U)依存 poly(Phe)合成系) を用いて、Stm1 が翻訳におよぼす効果を調べた。その結果、Stm1 は翻訳抑制能を示し、さらにその翻訳抑制効果が eEF3 によって解消されることを明らかにした。

また Stm1 とリボソームの相互作用を調べる過程で、Stm1 が eEF2 をリボソーム上に安定化することを発見した。そこでそのメカニズムについて詳細を調べた。様々なグアニンヌクレオチド存在下におけるリボソーム結合実験により、Stm1 が eEF2 の構造を GTP 型に固定化してリボソーム上に安定化することを明らかにした。また Stm1 が eEF2 による 80S リボソーム依存 GTP 加水分解活性を抑制しないことを明らかにした。さらに、

Stm1 の N 末端及び C 末端の系統的欠失体についてリボソーム結合能と eEF2 安定化能を解析し、Stm1 がそのコア領域(47-107aa)によって eEF2 をリボソーム上に安定化することを明らかにした。すなわち、Stm1 は eEF2 の GTP 加水分解や Pi-release 自体を阻害することはできないが、eEF2 の Pi-release に伴う構造変化を阻害し、リボソームからの解離を抑制することで eEF2 をリボソーム上に安定化させるといえる。このことから、「Stm1 はコア領域 (47-107aa) を介して、フシジン酸様のメカニズムで eEF2 をリボソーム上に安定化する」と提唱した。

Stm1 が翻訳伸長過程を阻害している証拠は得られなかった。Stm1 による eEF2 の安定化によって翻訳抑制がひきおこされるのではなく、Stm1 を介して何らかのメカニズムによって翻訳抑制された結果、eEF2 結合 80S リボソームが蓄積すると考察した。飢餓状態などのストレス条件下では mRNA が結合していない空のリボソーム上に eEF2 が結合した状態で蓄積することがヒト細胞において報告されている。Stm1 はストレス条件下で、eEF2 が結合した状態でリボソームを蓄積させているのではないかと考察した。

本論文で得られた知見は今後、翻訳における Stm1 の役割、Stm1 を介した翻訳制御と mRNA・新生ペプチド鎖の品質管理機構との連携のメカニズムの解明につながるものであり、細胞における遺伝子発現制御の分子基盤を理解するために重要な研究である。

したがって、博士（科学）の学位を授与できると認める。

以上 1 8 9 1 字