

論文審査の結果の要旨

氏名 小林 幹

本論文は5章からなる。第1章はイントロダクションであり、翻訳終結とリボソームレスキューについての先行研究で得られた知見を提示するとともに、その文脈上での本研究の位置づけとその意義を示している。研究目的の1つ目は、古細菌における翻訳終結機構とリボソームレスキュー機構の解明である。古細菌ではtRNAをリボソームに運んでタンパク質を合成する伸長因子aEF1 α が終結因子aRF1やリボソームレスキュー因子aPelotaとも結合して伸長、終結、リボソームレスキューに関わっている。そこでaRF1•aEF1 α •GTP複合体とaPelota•aEF1 α •GTP複合体のX線結晶構造解析によってaEF1 α の三重の特異性の根拠を解明するとともにそれらの作用機構を解明することを目指している。翻訳終結もリボソームレスキューもその機構はよくわかっておらず、その理由の1つは反応に関わっている因子の構造情報が不足していることである。そのため本研究は翻訳終結とリボソームレスキューの研究にブレークスルーをもたらす可能性がある。研究目的の2つ目は、バクテリアにおいてリボソームレスキューを行う因子EF-Pを水酸化する酵素YfcMの、X線結晶構造解析による作用機構の解明である。YfcMは最近発見された新規の水酸化酵素であるがYfcMに関する知見は非常に乏しく、その作用機構は不明である。そのため本研究によってYfcMの高分解能の構造が明らかになればタンパク質に対する新規の水酸化機構が解明される可能性がある。

第2章では古細菌において翻訳終結を行うaRF1•aEF1 α •GTP複合体の構造機能解析について述べられている。この研究では翻訳終結複合体の全体構造を高分解能で初めて決定した。この構造によってaRF1がtRNAの形状を擬態することでaEF1 α のtRNA認識部位と結合し翻訳終結課程のリボソームに運ばれることが初めて分かった。そしてこの構造に基づいてリボソーム中でのaRF1の挙動を考察するとともに変異体解析によって構造の正当性を検証している。

第3章では古細菌においてリボソームレスキューを行うaPelota•aEF1 α •GTP複合体の構造機能解析について述べられている。この研究ではリボソームレスキュー複合体の全体構造を高分解能で初めて決定し、aRF1と同様aPelotaもtRNAの形状を擬態することでaEF1 α のtRNA認識部位と結合しmRNA上で動けなくなったリボソームに運ばれることが初めて分かった。そしてこの複合体とリボソームとのドッキングモデルを構築することでリボソーム中でのこの複合体の作用機構を考察し、得られた作業仮説を変異体解析によって検証している。

第4章では真正細菌においてリボソームレスキューを行うYfcMの構造機能解析について述べられている。この研究ではYfcMが既知のいかなる水酸化酵素とも違った構造をもっていることを解明したYfcMの構造はむしろUPF0054ファミリーに属するヌクレアーゼであるYbeYと活性部位の構造を共有しており、UPF0054ファミリーと似た構造をもったタン

パク質が水酸化酵素として機能することが初めて明らかになった。さらに YfcM は、YbeY の活性部位を形成する 3 つのヒスチジン残基による金属イオン配位モチーフに相当する位置に 2 つのヒスチジン残基と 1 つのグルタミン酸残基から成る金属イオン配位モチーフが存在することがわかった。このモチーフは多くの水酸化酵素や酸化酵素の活性部位を形成する鉄イオン配位モチーフであるとよく似ており、実際配位に関わる残基を変異させた変異型 YfcM では活性が大きく減少することを変異体解析によって確認している。

第 5 章ではこれら 3 つの研究を総括するとともに研究完了後の他グループからの研究報告について述べ、翻訳終結とリボソームレスキューに関する研究の現状と今後の課題について議論している。また翻訳因子が翻訳反応を超えて生体内で広く重要な役割を担っていることを主張している。

以上のように本論文では一貫して翻訳に関わるタンパク質の構造研究についての研究成果を述べ、翻訳終結とリボソームレスキューの研究を大きく前進、発展させるような重要な構造を 3 つ報告した。さらにいずれの研究においても構造情報をもとに機能解析を行うことを忘れず、それぞれの因子の作用機構について多面的な議論をおこなっている。そしてそこから導き出された結論は実験データや先行研究での報告を的確に反映しており、合理的で信頼に足るものである。これらの研究成果による論文提出者の生物学への貢献、及びそれを可能にした彼の学識は博士 (理学) の学位を授与するに足ると判断できる。

なお本論文第 1 章は斎藤和紀博士 (2 章、3 章)、菊野泉氏 (3 章)、黒羽一誠博士 (3 章)、鈴木健裕博士 (2 章、4 章)、堂前直博士 (2 章、4 章)、石谷隆一郎博士 (2 章、3 章、4 章)、稲田利文教授 (3 章)、伊藤耕一教授 (2 章、3 章)、濡木理教授 (2 章、3 章、4 章) との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及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する。

従って、博士 (理学) の学位を授与できると認める。