

論文審査の結果の要旨

氏名 赤羽 しおり

本論文は、哺乳類ミトコンドリアにおける異常停止したリボソーム複合体の解消機構の解明について述べられている。

ミトコンドリアには核とは別の独自のゲノム DNA (mtDNA) が存在する。哺乳類ミトコンドリアの mtDNA には 13 個の蛋白質がコードされており、全てミトコンドリア内膜中の呼吸鎖複合体を構成する膜蛋白質となっている。これらは、ミトコンドリア独自の蛋白質合成系によって蛋白質に合成され、ミトコンドリア内膜に挿入される。

生体内における蛋白質合成は、開始・伸長・終結・リボソーム再生の 4 つの段階からなる。生体内では、様々な理由で翻訳伸長反応が異常停止 (stalling) してしまう場合があり、異常停止したリボソーム複合体は生体にとって有害となるため、このような状態に対する解消機構が存在する。大腸菌には、異常停止の解消機構として 3 つの機構が存在する (tmRNA、ArfA、ArfB)。このうち tmRNA は原核生物に広く保存されており、原核生物の異常停止解消における主要な機構となっている。一方で、哺乳類ミトコンドリアにおける異常停止の解消機構については未だ明らかになっていない。哺乳類ミトコンドリアには、tmRNA や ArfA に対応する因子は存在せず、ArfB の真核生物オーソログである ICT1 のみが存在する。そこで論文提出者は、ICT1 の機能解析を通じて、哺乳類ミトコンドリアにおける異常停止したリボソーム複合体の解消機構の解明を目指した。

ICT1 (immature colon carcinoma transcript-1) は、GGQ モチーフを持つがコドン認識領域を欠いていることから、リボソーム依存的コドン非依存的なペプチド解離因子であると考えられてきた。一方で ICT1 に固有の特徴として、ICT1 はリボソーム蛋白質であり、大サブユニットの構成因子として同定されている。そこで論文提出者はまず、ICT1 がリボソーム蛋白質であることを考慮して、ミトコンドリア 55S リボソームを用いて ICT1 の機能解析を行った。始めに豚肝臓由来ミトコンドリアから 55S リボソームを調製し、ICT1 が含まれていることを確認した。続いてこのリボソームを用いて ICT1 のペプチド解離活性を解析した。その結果、リボソーム蛋白質として存在する ICT1 はペプチド解離活性を示さず、外来から ICT1 を加えた時にのみペプチド解離活性が検出されることが明らかになった。また、ICT1 は mRNA の有無に関わらずリボソーム依存的にペプチド解離活性を持つことが分かった。

次に、ICT1の基質特異性について解析した。*in vitro* 蛋白質合成系におけるペプチド合成に対するICT1の機能について解析したところ、ICT1はリボソームA-siteにmRNAが存在しない場合に最も高い活性を示すことが明らかになった。一方で、mRNAがリボソームA-siteに存在する場合にも優位なペプチド解離活性が検出されることが分かった。これよりICT1は、mRNAの3'末端で異常停止したリボソーム複合体に加えて、mRNAの途中で異常停止したリボソーム複合体においても機能できることが示唆された。ICT1のこのような特徴は大腸菌ポリソームを用いた実験においても確認された。

続いて、ICT1の機能部位の同定を行った。ICT1には他のペプチド解離因子には見られない特徴的な25残基挿入領域が存在する。この領域におけるアラニン置換変異体を用いて挿入領域の役割を調べた。結果として、25残基挿入領域はペプチド解離反応には必須であるが、リボソームとの結合自体には重要ではないことが分かった。

本論文で得られた結果から、リボソーム蛋白質として存在するICT1はペプチド解離反応には関与せず、ペプチド解離活性部位とは異なる部位に結合することが示唆された。外来からICT1がリボソームに結合することでペプチド解離活性が示されると推察される。さらに、ICT1は様々な状態の異常停止リボソーム複合体においてペプチド解離活性を示すことが分かり、多機能なペプチド解離因子であることが示唆された。この結果から、ICT1の翻訳終結因子としての機能も推測される。また、ICT1に特有の25残基挿入領域は、ICT1のGGQモチーフがリボソーム上で適切な配向をとるのに重要であると考えられる。

本研究は、蛋白質合成における制御機構の研究の基盤となる重要なものであると言える。一方で、ミトコンドリアにおける蛋白質合成系の異常が原因となっている疾患がこれまで多数報告されており、ミトコンドリア蛋白質合成機構の理解は医療面でも重要となっている。本研究は、ミトコンドリア蛋白質合成系に関して新たな知見を与え、疾患の発症機構の解明につながることを期待される。

したがって、博士（生命科学）の学位を授与できると認める。

以上1997字