

ふりがな やまもと ひろし  
氏名 山本 紘  
学位 博士 (理学)  
学位記番号 新大院博 (理) 第 277 号  
学位授与の日付 平成 19 年 3 月 22 日  
学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項該当  
博士論文名 Mechanism of translation initiation mediated by dicistrovirus IRES.  
(ジシストロウイルス IRES を介した翻訳開始機構)

論文審査委員 主査 教授 内海利男  
副査 教授 小谷昌司  
副査 教授 和田清俊  
副査 助教授 杉本健吉

#### 博士論文の要旨

RNA ウイルスは多様に進化し、自らの遺伝情報を発現するための特徴的な機能を獲得している。IRES (Internal Ribosome Entry Site) 構造はその一つで、リボソーム結合部位を提供し、自らの遺伝子の翻訳効率を上げている。本研究は、IRES の中でも特にユニークなチャバネアオカメムシ腸管ウイルス *Plautia stali intestinal virus* (PSIV) の IRES を対象としている。この IRES を介する翻訳では通常必要となる、翻訳開始因子や開始コドン、開始 tRNA に依存していない。本論文では、極めてユニークなこのウイルス IRES を介した翻訳開始機構に関する生化学的解析結果が報告されている。

研究材料として PSIV のゲノムの IRES 部分を含む 200 ヌクレオチド領域の断片およびその各種変異体プラスミドクローンが用いられている。それぞれのクローンを鋳型として *in vitro* で合成された IRES 部位の RNA 断片と節足動物 *Artemia salina* から調製したリボソームとの結合性が生化学的に解析されている他、その結合に伴うリボソームの構造と機能への効果について詳細に解析され、以下のような研究結果が報告されている。

#### ① IRES のドメイン 2 領域の特殊な高次構造が真核リボソームと結合する (第 1 章)

PSIV の IRES は 3 つのドメイン (ドメイン 1、2、および 3) から構成されているが、IRES の各種変異型 RNA を用いたリボソームとの結合実験、および、RNA の化学修飾を用いたフットプリント法による分析から、ドメイン 2 を構成する断片がリボソーム結合部位を構成し、シュードノット構造と呼ばれる特殊な高次構造がその結合部位の構造形成に寄与することが示されている。

#### ② IRES 結合で、ドメイン 3 はリボソームのデコーディングセンターに位置する (第 1 章)

IRES のドメイン 1-2 のリボソーム結合は tRNA の結合と競合するが、tRNA のアンチコドンステムループ部位とは競合しない。しかし、ドメイン 3 を含む IRES 全体は tRNA のアンチコドンステムループ断片とも競合する。これらの結果より、ドメイン 3 は、リボソームのデコーディングセンターの機能中心に結合することが示されている。

③ IRES の結合はリボソームデコーディングセンターの rRNA 高次構造を変化させる (第 2 章)

IRES の結合による rRNA の化学修飾への効果を解析したところ、デコーディングセンターに位置する 18S rRNA の helix 18 部位の修飾が特異的に増強し、IRES による rRNA 機能部位の構造変化誘導が示されている。

④ IRES の結合により翻訳因子 eEF2 のリボソームへの作用効率が促進する (第 2 章)

リボソームへの IRES の結合により、翻訳因子 eEF2 とリボソームの作用により生じる GTPase 活性が 3 倍に促進し、リボソーム上での tRNA のトランスロケーションを促進する eEF2 の作用効率が促進することが示されている。

⑤ IRES により介される翻訳開始 tRNA のリボソーム結合は eEF2 の作用を必要とする (第 2 章)

通常の翻訳開始コドンは AUG でこれに対応する開始 tRNA と開始因子の作用により開始複合体が形成されるが、IRES を介する場合、開始因子は必要とせず、最初のコドンに対応する tRNA の結合には eEF2 によるトランスロケーション反応を必要とすることが示されている。

以上の①～⑤の結果より、PSIV の IRES がリボソームに強く結合して、rRNA の機能構造を変化させ、IRES に依存した特徴的な翻訳開始の仕組みを可能にしているという結論が導きだされている。

#### 審査結果の要旨

本論文は、一部の RNA ウイルスが保有する IRES に依存したユニークな翻訳開始の仕組みを生化学的に解析した研究内容で、得られた成果は、次のような意義がある。

- 1) 本研究で使用した PSIV の IRES を介した翻訳反応は、常識をくつがえす極めて特徴的な開始機構により進行するが、このユニークな反応を可能にする構造要因をリボソーム側と IRES 側の両面から初めて明らかにしている。
- 2) 真核リボソームの構造と機能面の研究に幾つかの新たな知見を提供するものである。
- 3) 新規タンパク質合成系の開発に有効なヒントを与えるものである。

得られた研究成果は、権威ある国際学術雑誌に採択されている。以上のことから、本論文は博士(理学)の学位論文として十分な価値があると認定した。