

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名	村上 僚
学位	博士 (理学)
学位記番号	新大院博 (理) 第 410 号
学位授与の日付	平成 28 年 3 月 23 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	Structural basis of the interaction of translation initiation factor 5B with ribosomal stalk (翻訳開始段階における開始因子 IF5B とリボソームストーク間相互作用の構造基盤)
論文審査委員	主査 教授・内海 利男 副査 教授・長束 俊治 副査 教授・西川 周一 副査 教授・酒井 達也 副査 助教・伊東 孝祐

博士論文の要旨

リボソームは rRNA とリボソームタンパク質からなる巨大分子複合体であり、大サブユニットと小サブユニットにより構成されている。リボソームによる翻訳は、開始、伸長、終結、リサイクリングの四段階に大別され、中でも、真核生物における翻訳開始段階には多くの翻訳開始因子が関与しており、遺伝情報の発現が厳密に制御されている。翻訳開始因子 eIF5B は翻訳開始の中でも終盤に機能する因子であり、小サブユニット、開始 tRNA、mRNA から成る 40S 開始複合体と 60S サブユニットの会合を促進することで翻訳を伸長段階へと移行させる機能を持つ GTP 結合性翻訳因子である。近年、古細菌リボソーム大サブユニットのタンパク質である、ストークタンパク質 aP1 が古細菌 aIF5B (eIF5B ホモログ) と直接的に結合することが明らかにされた (Nomura *et al.*, 2012)。ストークはその C 末端領域を介して翻訳伸長因子と直接的に結合し、それらの因子をリボソームの機能中心であるサルシン・リシンループへとリクルートする機能を持つことが知られている。しかしながら、翻訳開始段階における eIF5B とストーク間の相互作用の様式および機能的意義は何一つ明らかになっていない。

本研究では、eIF5B とストークの結合様式及び相互作用の機能的意義を明らかにするため、eIF5B と構造・機能的に相同な aIF5B (*Aeropyrum pernix* 由来) を使用し、ストークとの複合体の X 線結晶構造解析及びそれに基づいた機能解析実験を行った。まず、相互作用様式を探るため、aIF5B・GDP 複合体、aIF5B domain I-II・GDP・aP1C 末端 17 残基ペプチド複合体の結晶化を行い、それらの立体構造を最大分解能 1.9 Å で決定することに成

功した。構造解析の結果から、aP1 の C 末端は aIF5B の domain I に存在する疎水性領域に結合することを明らかにした。次に、構造解析に基づいた結合実験を行い、aP1 の疎水性残基 L105、M108 および F109、aIF5B の aP1 結合領域周辺のアミノ酸残基が両者間の相互作用に重要であることを示した。

さらに相互作用の機能的意義を探るため、構造解析の結果に基づき、aIF5B のストーク結合領域の一部に相当する 5 残基 (Y582, F583, Q584, K586 および M588) にアラニン置換変異を導入した出芽酵母由来 eIF5B を用いて、eIF5B およびリボソーム依存的な GTP 加水分解活性および *GCN4* レポーターによる翻訳開始効率の検証を行った。その結果、eIF5B 変異体のリボソーム依存的な GTP 加水分解活性は野生型の半分以下となった。また、*GCN4* レポーター実験の結果では、eIF5B 変異体を発現する酵母株において、野生型と比べて非常に高い頻度で開始コドンスキップする傾向が確認され、開始コドン選択における厳密性の低下がみられた。

以上の機能解析の結果から、eIF5B とストークタンパク質間の相互作用は、翻訳開始段階終盤における eIF5B によるサブユニット会合反応に寄与することで eIF5B による GTP 加水分解活性を促進し、翻訳開始反応の正確性を上げていることが示唆された。

審査結果の要旨

本論文は、翻訳が開始段階から伸長段階へと移行する上で必須の現象であるリボソームサブユニット会合反応における、翻訳開始因子 IF5B とリボソームストークの相互作用の機能的意義を明らかにすることを目的とし、X 線結晶構造解析および生化学的な機能解析を行ったものである。得られた研究成果には次のような意義がある。

- 1) X 線結晶構造解析により、aIF5B におけるストーク C 末端領域の結合様式を原子分解能レベルで明らかにした。
- 2) 構造解析に基づく結合実験により、相互作用に重要なアミノ酸残基を特定した。
- 3) ストークが eIF5B のリボソーム依存的な GTP 加水分解活性を促進することを明らかにした。
- 4) eIF5B とストークの相互作用は、サブユニット会合反応を促進することで、翻訳開始の正確性に寄与していることが強く示唆された。

以上の結果は、真核生物の翻訳開始過程におけるリボソームストークと翻訳因子間相互作用の分子構造および機能に関して新たな知見を提供するもので、基礎理学の研究として評価される内容である。主要参考論文は、国際学術雑誌 *Proteins: Structure, Function and Bioinformatics* に筆頭著者として掲載が決定されている。以上のことから、本論文は博士(理学)の博士論文として十分な内容であると判定した。