

論文名：翻訳開始段階における開始因子 **eIF5B** とリボソームストーク間相互作用の構造基盤

新潟大学大学院自然科学研究科

氏名 村上 僚

---

(以下要約を記入する)

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することができる。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。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、超好熱性古細菌由来 **aIF5B** とストーク複合体の 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** の保存性の高い疎水性残基及び **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。

次に、相互作用の機能的意義を探るため、**aIF5B** のストーク結合領域の一部に相当する **5** 残基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、開始コドン選択性の厳密性の低下がみられ、野生型と比べて非常に高い頻度で開始コドンをスキップする傾向が確認された。

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しており、翻訳開始反応の正確性を上げていることが示唆された。