

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 本田 貴嘉
 学位 博士 (理学)
 学位記番号 新大院博 (理) 第 421 号
 学位授与の日付 平成 29 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 Analysis of interaction between archaeal ribosomal stalk proteins and translation elongation factors
 (古細菌リボソームストークタンパク質と翻訳伸長因子間の相互作用解析)

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

古細菌における翻訳伸長サイクルでは2つの翻訳伸長因子 aEF1A と aEF2 が交互にリボソームと相互作用し、効率的な伸長反応を進行させている。リボソーム大サブユニット上には“ストーク”と呼ばれる柔軟なリボソームタンパク質が複数コピー存在し、リボソームと 2 つの伸長因子との交互の相互作用に密接に関与している。古細菌リボソームには 3 対のストークホモ 2 量体(aP1)₂が存在し、それらは足場となるタンパク質 aP0 と結合して 7 量体を形成している。ストークの多量体構造の機能的意義として、リボソーム本体への翻訳因子の効率的取り込みが示唆されている。しかし、複合体中の全てのストークが同等に翻訳因子との結合に関与しているかどうかについては、未だに明確にされていない。

本研究では aP0 上に結合した個々の aP1 タンパク質の因子結合性を、ゲルシフトアッセイを用いて解析した。まず、再構成し精製した aP0(aP1)₂(aP1)₂(aP1)₂ ストーク 7 量体、及び大腸菌 50S コアと結合させたストーク 7 量体と翻訳因子間の結合性を解析した。その結果、それら複合体と aEF2 との強固な結合性、そして aEF1A との弱い結合性が検出された。これらの結合性は aP1 C 末端の F107S 点変異によって完全に破壊され、ストーク 7 量体の aP1 の C 末端の F107 が因子との結合に重要である事が確認された。aP0 と結合した各 aP1 分子の因子結合能を解析するために、aP0 変異体と 1 つの(aP1)₂ 2 量体から構成される aP0・aP1 3 量体を調製した。生化学的及び定量的な解析から、*in vitro* で再構成した 3 量体、aP0(aP1)₂^I、aP0(aP1)₂^{II}、aP0(aP1)₂^{III} はそれぞれ 2 分子の aEF2 と結合する事が明らかにされた。この結果より、各 aP0・aP1 を構成する 2 分子の aP1 の C 末端領域に aEF2 が強く結合できる事が示された。さらに興味深い事に、aP0・aP1 の各 3 量体と aEF1A の不安

定な結合性が、aEF2 の存在によって明確に安定化された。この aEF2 が寄与する aEF1A とストークの結合の協調的安定化は、aEF1A·aP1·aP1·aEF2 複合体の形成を示唆しており、この複合体の形成により、リボソーム上の因子結合部位への aEF1A と aEF2 の効率的な交互のリクルートが可能になっていると推察された。

審査結果の要旨

本論文は、古細菌リボソーム上に複数コピー存在するストーク aP1 の C 末端部位の機能的役割、及びストーク aP1 が 2 種類の翻訳伸長因子を効率良くリクルートする仕組みの解明を目的として生化学的機能解析を行った内容である。得られた研究成果には次のような意義がある。

- 1) ストーク aP1 の C 末端領域が翻訳因子との結合に重要であることを確認した。
- 2) ストーク複合体中の全ての aP1 の C 末端領域が aEF2 と結合する事を明らかにした。
- 3) aEF1A とストーク aP1 二量体の不安定な結合が aEF2 との共存によって安定化する事を明らかにした。

以上の結果は、効率的なタンパク質合成を可能とするリボソームストークと翻訳因子間相互作用の仕組み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。主な成果内容は、国際学術雑誌 **Biochemical and Biophysical Research Communications** に筆頭著者として掲載されている。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内容であると判定した。