

論文内容の要旨

博士論文題目 Biochemical Analysis of GTP-binding Proteins of Obg/Era family
in *B. subtilis* and Functional Characterization of YqeH

氏名 Loh Pek Chin

(論文内容の要旨)

近年、多くの生物のゲノム配列が明らかになったことで、大腸菌の Era や枯草菌の Obg に代表される GTP 結合タンパク質(Obg/Era スーパーファミリー)が、細菌だけでなく高等真核生物にまで広く保存されていることが明らかになってきた。申請者が所属する研究室では、Era/Obg スーパーファミリーに属するタンパク質が、枯草菌において 10 種類存在し、そのうち 7 種類 (Obg, Bex, YsxC, YphC, YlqF, YqeH, YloQ) ものタンパク質が細胞の増殖に必須であることを明らかにしている。また、他の細菌でも、多くの Era/Obg スーパーファミリータンパク質が増殖に必須であることが報告されている。最近、それらがリボゾームの合成あるいはタンパク質合成に関与することを示す結果が得られてきているが、その分子機構は多くのもので不明である。

本研究では、まず、Obg, Bex, YsxC, YphC, YlqF, YqeH を精製し、それらが GTP 及び GDP に特異的に結合することを明らかにし、それらが確かに GTP 結合タンパク質であることを証明した。そして、Obg 及び Bex の低い内在性 GTPase 活性が、それぞれ、50S あるいは 30S リボゾームサブユニットで活性化されること、一方、YphC 及び YqeH は高い内在性 GTPase 活性を持ち、それらは、リボゾームサブユニットに影響されないこと、また、YsxC の GTPase 活性はリボゾームサブユニット存在下でも検出できないことを見出し、Era/Obg ファミリーの中で、G タンパク質としての生化学的特徴に違いがあることを明らかにした。

次に、30S あるいは 50S、いずれのリボゾームサブユニットの形成に関与しているかが不明であった YqeH に焦点を当てて研究を進め、枯草菌細胞中で、それを枯渇させると、遊離 30S サブユニットが特異的に消失するという興味深い現象を見出した。また、対数増初期に YqeH を枯渇させると 30S サブユニット中の 16SrRNA の分解も確認された。これらの結果は、YqeH が 30S サブユニットの新生に関与していることを示している。さらに、その分子機構を知るために、GTPase 活性を失った変異タンパク質を取得し、それが細胞中で野性型タンパク質の機能を代行できないことを明らかにし、また、酵母 2 ハイブリッド系を用いて、GDP 結合型 YqeH が 30S リボゾームタンパク質 S4 と相互作用することを明らかにした。

このように本研究では、Era/Obg ファミリーの中で、G タンパク質としての生化学的特徴に違いがあるという、今後、Era/Obg ファミリーの働きの分子機構を明らかにしていく上で興味深い結果を得ると共に、YqeH が 30S リボゾーム形成に関与していることを初めて解明し、30S リボゾームタンパク質 S4 との相互作用を含めて、YqeH の働きについてのモデルを提案することができた。

(論文審査結果の要旨)

細菌のゲノム配列決定により、細菌ゲノムにコードされているタンパク質の多様性の解明が進んでいる。その結果、細菌ゲノムにコードされているタンパク質の約 1/3 は、長い遺伝学的・生化学的研究の歴史にもかかわらず、その機能が推定できないものであることが明らかになった。その中でも、細菌の増殖に重要な役割を果たす新規タンパク質の機能解明は、基礎生物学の上で重要であるだけでなく、新たな抗生物質探索のためのターゲットとして、応用研究の上でも関心を集めている。

枯草菌では、系統的な遺伝子破壊実験の結果、単独の破壊が致死となる必須遺伝子が 271 であることが明らかにされている。その内、17 遺伝子の遺伝子産物について、なぜ増殖に必須なのか現在でも不明である。興味深いことに、そうした機能不明の必須タンパク質には、大腸菌の *Era* や枯草菌の *Obg* に代表される GTP 結合タンパク質(*Obg* / *Era* スーパーファミリー)が 7 種類も含まれている。また、他の細菌でも、多くの *Era/Obg* スーパーファミリータンパク質が増殖に必須であることが報告されており、最近、それらがリボゾームの合成あるいはタンパク質合成に関与することを示す結果が得られてきているが、それらの分子機能は、多くのものについて不明である。

申請者は、まず、枯草菌の *Obg*, *Bex*, *YsxC*, *YphC*, *YlqF*, *YqeH* について、それらが確かに GTP 結合タンパク質であることを証明し、さらに、それらの間で、G タンパク質としての生化学的特徴に違いがあるという、今後、*Era/Obg* ファミリーの働きの分子機構を明らかにしていく上で興味深い結果を提示した。次いで、遺伝学的手法により、*YqeH* は 30S サブユニットの新生に関与していることを示し、この結果、50S サブユニットの形成には *Obg*, *YlqF*, *YsxC*, *YphC* が関与し、30S 形成には *Era*, *YqeH*, *YloQ* が関与するという全体像を完成させた。さらに、GDP 結合型 *YqeH* が 30S リボゾームタンパク質 S4 と相互作用することを発見し、*YqeH* の分子機能を解明していく指標となるいくつかの仮説を提示した。

このように、本論文は *Era/Obg* スーパーファミリータンパク質のリボゾーム合成における分子機能の一面を明らかにしたことにより、今後の *Era/Obg* スーパーファミリータンパク質の研究に大きく貢献するものである。従って、基礎生物学の上で重要な結果を得たのみでなく、新たな抗生物質探索という、実用面でも意義のあるものである。よって、本論文は博士(理学)の学位論文として価値のあるものと認める。