

論文内容の要旨

申請者氏名 大古殿 美加

細胞内では「翻訳」という過程を介してタンパク質が合成されている。翻訳は mRNA を鋳型として、リボソームにより一定の速度で行われる。一方、近年の研究により、mRNA 上で翻訳が一時的に停止する「翻訳休止」という現象が見出され、遺伝子の発現制御や mRNA の局在化等の生理的意義を有することが明らかになってきた。また、原核生物を用いた研究では、翻訳途中のペプチド鎖（新生鎖）とリボソームトンネルとの相互作用により翻訳休止する例が報告されている。本研究室においては、哺乳動物細胞の転写因子 XBP1u において翻訳休止が起こることが見出された。サイトゾルにおいて XBP1u の翻訳休止が起こると、その休止時間を利用して XBP1u mRNA、新生鎖、リボソームから構成される三者複合体が小胞体膜へと移動し、ストレス条件下では、ストレスセンサー IRE1 α による細胞質スプライシングを受け、活性転写因子 XBP1s の合成が効率良く行われる。XBP1s は構造異常タンパク質を処理するシステム（小胞体ストレス応答）に関与していることから、XBP1u の翻訳休止は細胞の恒常性維持に寄与する機能性翻訳休止であると言える。先行研究により、XBP1u の C 末端の26アミノ酸残基（最小翻訳休止配列）が翻訳休止に必須なことが分かっているが、詳細な機構は未解明である。そこで本研究では、XBP1u の場合にも原核生物と同様に新生鎖とリボソームトンネルとの相互作用により翻訳休止が引き起こされるという仮説を立て、XBP1u 新生鎖とリボソームタンパク質との相互作用について解析した。

まず、リボソームトンネル内壁と相互作用し得る XBP1u のアミノ酸残基を知るため、翻訳休止時にトンネル内に収まっているアミノ酸配列を調べた。その結果、最小翻訳休止配列に加えその上流の7-14個のアミノ酸残基もトンネル内に存在し、 α -ヘリックスをトンネル出口付近で形成することが示唆された。また、翻訳休止時に最小翻訳休止配列と近接するリボソームタンパク質を光架橋法と質量分析により調べた結果、RPL3、RPL4、RPL7といった複数のリボソームタンパク質と近接することも分かった。これらのリボソームタンパク質を哺乳動物細胞においてノックダウンした場合、XBP1u の翻訳休止が阻害されたため、XBP1u の翻訳休止には最少翻訳休止配列とリボソームタンパク質との相互作用が必要であることが示唆された。

本研究により、真核生物で初めて生理的意義を有する翻訳休止とリボソームトンネルとの関与が示唆された。本研究により得られた「XBP1u の新生鎖とリボソームタンパク質との相互作用が翻訳休止に必要な」という知見は、今後 XBP1u と同様の翻訳休止が真核生物で発見された場合に、その機構を解明する上で有用な知見になり得ると考えられる。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 大古殿 美加

リボゾームにて起こる翻訳反応の一過的な休止は、真核生物では、小胞体移行シグナルペプチドを有する分泌タンパク質や膜貫通タンパク質 mRNA の小胞体トランスロコンへの運搬時に認められる現象として知られていた。また、mRNA が異常な高次構造をとる場合に翻訳休止が引き起こされるという事例もある。一方、2010年代になって開発されたリボゾームプロファイリング法により、mRNA の翻訳反応進行速度は一定では無く、旧来には予測し得なかった多数の特定部位で翻訳休止が起こることが明らかとなった。

そこで申請者は、真核生物における新たな細胞分子生物学的事象として、翻訳休止に焦点を当て、そのメカニズムにアプローチする研究を進め、今回、博士論文として纏め上げるに至った。申請者が着目したのは、翻訳休止することがすでに知られており、また、それにシスに寄与する産物ペプチド配列（以下、翻訳休止配列と呼ぶ）も判明している XBP1u mRNA である。なお、小胞体移行シグナルペプチドは、翻訳反応途中にリボゾームトンネルから露出した時点で、サイトゾルに存在するシグナル認識粒子 (Signal Recognition Particle; SRP) と結合し、それが翻訳休止につながるということが分かっている。一方、申請者の研究により、XBP1u mRNA の場合、産物ペプチドの翻訳休止配列がリボゾームから露出する前に、翻訳が休止ことが分かっている。よって、XBP1u mRNA 翻訳休止の場合は、例えば SRP のようにトランスに働きかける因子の寄与は小さく、別なメカニズムの存在が推定される。

そして申請者は、光架橋法などの研究手法を駆使し、XBP1u mRNA 産物ペプチド翻訳休止配列が、リボゾームトンネルを構成するタンパク質と物理的に相互作用すること、そして、そのリボゾームタンパク質の発現抑制 (siRNA 法による) により、XBP1u mRNA の翻訳休止がキャンセルされることを明らかにした。これらの知見は、XBP1u mRNA 産物ペプチドがリボゾームトンネルに「問える (つかえる)」ことによって、翻訳休止が引き起こされることを示す。このようにトランスで機能するファクターを主因としない翻訳休止は、バクテリアでは過去に報告があるものの、真核生物細胞では初めての事例である。

以上のように、本論文は、近年注目を集めつつある翻訳休止という現象において、真核生物細胞では旧来は想定されてなかったリボゾームトンネルの寄与を示すものであり、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士 (バイオサイエンス) の学位論文として価値あるものと認めた。