



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Studies on the Ribosomal Translation Arrest Coupled with mRNA Degradation in CGS1 Gene of <i>Arabidopsis thaliana</i> [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	山下, 由衣
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(生命科学)
Dissertation Number	甲第11410号
Issue Date	2014-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/56338
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Yui_Yamashita_review.pdf, 審査の要旨



学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博士（生命科学） 氏 名 山 下 由 衣

審査担当者	主 査	教 授	内 藤 哲
	副 査	教 授	加 藤 敦 之
	副 査	教 授	田 中 歩
	副 査	教 授	姚 関
	副 査	准教授	尾 之 内 均（大学院農学院）

学 位 論 文 題 名

Studies on the Ribosomal Translation Arrest Coupled with mRNA Degradation
in *CGS1* Gene of *Arabidopsis thaliana*
(シロイヌナズナ *CGS1* 遺伝子におけるリボソームの翻訳アレストと共役した mRNA 分解機構の研究)

博士学位論文審査等の結果について（報告）

シスタチオニン γ -シンターゼ (CGS) は高等植物におけるメチオニン生合成経路の鍵段階を触媒する酵素である。シロイヌナズナの CGS をコードする *CGS1* 遺伝子の発現は、メチオニンの代謝産物である *S*-アデノシルメチオニン (AdoMet) に応答して、mRNA 分解の段階でフィードバック制御を受ける。この制御では、AdoMet が引き起こす *CGS1* mRNA 上でのリボソームの翻訳伸長反応の停止（以下、「翻訳アレスト」）が mRNA 分解のトリガーとなり、翻訳アレストを起こしたリボソームの近傍で *CGS1* mRNA が切断されると考えられている。しかしながら、*CGS1* mRNA 上で起こる翻訳アレストが、いかにして mRNA 分解につながるのかは未解明である。本研究は、翻訳アレストから mRNA 分解に至る過程でのリボソームと *CGS1* mRNA の動態を明らかにしたものである。

第 1 章では、*CGS1* 遺伝子発現のフィードバック制御について、これまでに得られている知見がまとめられている。

第 2 章では、AdoMet に応答した mRNA 分解における poly(A)鎖長の短縮を論じている。普遍的な mRNA 分解は、poly(A)鎖長の短縮が律速になると考えられている。定常状態では、*CGS1* mRNA の poly(A)鎖長は 60 塩基程度であったのに対し、AdoMet による mRNA 分解が誘導された条件下では、約 150 塩基と約 20 塩基の 2 つの *CGS1* mRNA 分子種の蓄積を認め、前者が切断前、後者が切断後の *CGS1* mRNA と同定した。これらの結果に基づき、翻訳アレストに伴う *CGS1* mRNA の分解における poly(A)鎖長の短縮を、普遍的な mRNA 分解との対比において考察している。

第 3 章では、AdoMet によるリボソームの停滞と *CGS1* mRNA 分解中間体の生成メカニズムを論じている。AdoMet によって翻訳アレストを起こしたリボソームは 94 番目のセリン（以下、「Ser-94」）までを翻訳し、部分翻訳産物としてペプチジル tRNA(Ser)が生じる。Ser-94 コドンでリボソームが停滞すると、これに後続のリボソームが追突し、停滞させる。この後続のリボソームの停滞と *CGS1* mRNA 切断は相関していると考えられている。著者は部分翻訳産物の tRNA の分子種を解析することで、追突したリボソームの停滞位置を特定した。

Ser-94 までの翻訳産物に加えて、85 番目のバリンと 76 番目のアラニンまでを翻訳したペプチジル tRNA が蓄積することから、追突したリボソームは 9 コドンの間隔で停滞すると論じた。また、先頭、および追突したリボソームについてピューロマイシン反応性を解析し、これらが転座反応の段階で停滞すると考察するとともに、mRNA 分解位置との関係を論じている。

第 4 章では、リボソームによる AdoMet 感知能の発現について、複数コドンの翻訳段階にわたる多元的な解析結果を論じている。AdoMet による翻訳アレストには *CGS1* mRNA にコードされる MTO1 領域と名付けたアミノ酸配列がシス配列として機能し、ここから数コドン下流の Ser-94 コドンで翻訳アレストが起こることから、MTO1 領域のペプチドはリボソームの出口トンネル内に存在する状態で翻訳アレストを引き起こす。翻訳アレストに伴い、MTO1 ペプチドを含む *CGS1* 新生ペプチドはリボソーム出口トンネル内で収縮構造をとり、また、翻訳アレストを起こしたリボソームはピューロマイシン反応性が低い。著者は Ser-94 コドンよりも数コドン上流の範囲で翻訳段階におけるリボソームについて、新生ペプチドのコンフォメーション変化とピューロマイシン反応性の両面から解析を行なった。その結果、Ser-94 コドンを翻訳する前の段階でも AdoMet が新生ペプチドのコンフォメーションと翻訳反応に影響を与えることを明らかにした。以上の結果から、*CGS1* mRNA を翻訳中のリボソームは、MTO1 領域を翻訳した直後から AdoMet をモニターし始め、Ser-94 コドンで翻訳アレストを引き起こすと考察している。

第 5 章では、著者が明らかにした一連の知見を総合的に考察し、*CGS1* mRNA における翻訳アレストと mRNA 分解の特異性と普遍性を論じている。

これを要するに、著者は、*CGS1* mRNA における AdoMet に応答した翻訳アレストと mRNA 分解のプロセスに関して新知見を得たものであり、その分子機構の解明に貢献するところ大なるものがある。

よって著者は、北海道大学博士（生命科学）の学位を授与される資格あるものと認める。