

氏名	小野 勝彦
授与した学位	博士
専攻分野の名称	理学
学位授与番号	博甲第3909号
学位授与の日付	平成21年 3月25日
学位授与の要件	自然科学研究科 バイオサイエンス専攻 (学位規則第5条第1項該当)
学位論文の題目	Isolation and characterization of an <i>Escherichia coli</i> mutant which requires <i>trans</i> -translation for growth at high temperature (高温条件下での生育に <i>trans</i> -translation を必要とする大腸菌変異株の単離と解析)
論文審査委員	教授 沓掛 和弘 教授 鎌田 堯 教授 高橋 裕一郎

### 学位論文内容の要旨

バクテリアの低分子RNAの1つであるSsrA RNAは*trans*-translationの主要因子であり、tRNAとmRNA両方の特徴を持つことからtmRNAとも呼ばれる。*trans*-translationは終止コドンを欠くmRNAの3'末端等で停滞したリボソームにSsrAが作用して起こる特殊な翻訳機構である。これによりリボソームは元のmRNAから解放され、翻訳途中であった新生ペプチド鎖にはSsrA由来の分解タグが付加される。*trans*-translationは細胞内のリボソームのリサイクルの促進やタンパク質の品質管理に関わるシステムであり、*ssrA*の欠損は様々な種において多様な表現型を示す。

本研究では、*trans*-translationの生理学的意義をさらに詳しく理解する目的で、大腸菌においてSsrA欠損と合成致死を示す因子の同定を試みた。その結果、高温条件下での生育にSsrAを必要とする変異株として*degP*変異株が単離された。DegPはペリプラズムのタンパク質の品質管理に働くと考えられているプロテアーゼである。*degP*変異株はそれだけで高温感受性を示すが、*ssrA degP*二重変異株ではより顕著な高温感受性を示すことが分かった。この表現型は、SsrA<sup>DD</sup>（プロテアーゼ耐性のタグを付加するようになった変異SsrA）を発現する株では相補されなかった。このことは、リボソームの停滞そのものではなく不良タンパク質の蓄積が高温感受性の原因となっていることを示している。また、*ssrA degP*二重変異株の高温感受性を抑圧するマルチコピーサプレッサーとして*rpoE*遺伝子が、サプレッサー変異として*rseA*変異が同定された。*rpoE*は外膜ストレス条件下で活性化するσ因子であるσ<sup>E</sup>をコードしている。また、RseAはσ<sup>E</sup>の活性を阻害するアンチσ因子であり、RseA欠損によりσ<sup>E</sup>の活性が上昇することが分かっている。これらの結果より、*ssrA degP*二重変異株の高温感受性はσ<sup>E</sup>活性の増加により抑圧されると考えられる。RpoEはσ因子であることから、RpoEそのものが直接*ssrA degP*二重変異株の高温感受性の抑圧に効いているとは考えにくく、RpoE制御下の因子が関与している可能性が高い。RpoEに制御されるペリプラズム局在性の因子を個々に高発現させても*ssrA degP*二重変異株の高温感受性を抑圧しなかったことから、RpoE制御下の未知の因子または複数の因子の高発現により、高温感受性が抑圧されると考えられる。また、RpoE欠損株の示す致死性は*ydcQ*変異により抑圧されるが、*ssrA degP*二重変異株の高温感受性もまた*ydcQ*変異により抑圧された。

以上の結果はSsrAがペリプラズムや外膜ストレス応答に関与していることを示唆している。大腸菌にとって必須のストレス応答経路であるRpoE経路の解析を進める上で、本研究で得られた知見は非常に有用であると考えられる。

## 論文審査結果の要旨

バクテリアの低分子RNAの1つであるSsrA RNAは、終止コドンを欠くmRNAの3'末端等で停滞したリボソームが行う特殊な翻訳機構、*trans-translation*の主要因子である。これによりリボソームは元のmRNAから解放されること、また、翻訳途中であった新生ペプチド鎖にはSsrA由来の分解タグが付加され、分解へと導かれることから、*trans-translation*は細胞内のリボソームのリサイクルの促進やタンパク質の品質管理に関わるシステムであるとされる。

本論文では、高温での生育にSsrAを必要とする変異株として*degP*変異株を単離し、詳しく調べた。DegPはペリプラズムのタンパク質の品質管理に働くプロテアーゼである。*ssrA degP*二重変異株の温度感受性は、SsrA<sup>DD</sup>（プロテアーゼ耐性のタグを付加するようになった変異SsrA）によっては相補されなかったことから、リボソームの停滞そのものではなく不良タンパク質の蓄積が高温感受性の原因となっていることが示された。また、外膜ストレスで活性化する $\sigma$ 因子である $\sigma^E$ の活性の上昇が*ssrA degP*二重変異株の高温感受性を抑圧することが示され、 $\sigma^E$ 制御下の未知の因子または複数の因子の高発現により、高温感受性が抑圧されることが考えられた。さらに、RpoE欠損株の示す致死性は*ydcQ*変異により抑圧されるが、*ssrA degP*二重変異株の高温感受性もまた*ydcQ*変異により抑圧された。

以上のように、本論文は細胞質で働くリボソームリサイクル・タンパク質品質管理システムである*trans-translation*がペリプラズムのタンパク質品質管理、外膜ストレス応答、細胞死に関わることを示したものである。これはバクテリアのストレス応答経路や細胞死に関して新知見を与えるものであり、学術上の貢献が大きいと評価され、博士の学位に値すると結論された。