



Title	In vitro single-step ribosome reconstitution
Author(s)	Lai, Weng Yu
Citation	大阪大学, 2026, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/105602
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

Abstract of Thesis

Name (Lai Weng Yu)	
Title	In vitro single-step ribosome reconstitution (単一ステップによるリボソームの試験管内再構成)
Abstract of Thesis In vitro ribosome reconstitution is a powerful approach for investigating ribosome assembly mechanisms and identifying key components involved in ribosome biogenesis. Early studies of ribosome biogenesis relied on thermodynamic reconstitution methods, which successfully assembled ribosomes in vitro but required non-physiological conditions, including elevated temperatures and high-salt buffers. In contrast, ribosome-associated GTPases have been reported to participate in the assembly of ribosomal RNA (rRNA) and ribosomal proteins in vivo. In this study, I have successfully reconstituted a functionally active ribosome using an in vitro coupled ribosome assembly system under near-physiological conditions. The GTPases ObgE and Der were identified as key auxiliary factors that facilitate the reconstitution of 70S ribosomes without the need for temperature shifts or altered salt concentrations. This study further demonstrates that posttranscriptional modifications of rRNA are not strictly required for ribosome assembly or ribosomal functionality under these conditions, indicating that the structural integrity and proper folding of rRNA are more critical determinants of successful assembly. Consistent with this conclusion, the RNA helicase DeaD was found to be essential for rRNA structural remodelling, promoting correct rRNA conformations during assembly, as revealed by a co-transcriptional coupled ribosome assembly assay. Together, these findings identify essential auxiliary factors required for ribosome assembly and provide new insights into the relative contributions of rRNA structure, modification, and remodelling to the molecular mechanisms governing ribosome biogenesis.	

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (LAI WENG YU)		
論文審査担当者	(職)	氏 名
	主 査	招へい教授 岡田康志
	副 査	教 授 廣瀬哲郎
	副 査	教 授 上田昌宏
	副 査	招へい教授 柴田達夫
	副 査	チームディレクター (理研) 清水義宏

論文審査の結果の要旨

リボソームの細胞内組み立て機構は未解明な点が多く、従来の試験管内再構成も非生理的な塩濃度や高温条件に依存していた。本論文は、リボソームを含まない再構成型無細胞タンパク質合成システムに、リボソームRNAとリボソームタンパク質を加え、活性リボソームが再構成されると緑色蛍光タンパク質が合成され、蛍光値の上昇によって形成リボソームの機能を観察することのできる反応系を新たに開発し、準生理的条件下で単一ステップの機能的リボソーム組み立てに成功した。2種のGTP加水分解因子であるObgEおよびDerがこの反応系に必須であること、RNAヘリカーゼの機能同定、リボソームRNAの塩基修飾と形成リボソームの関係性を明らかにするなど、リボソームの組み立て機構について、様々な重要な知見を得ている。

これらの成果は、リボソーム生合成の分子機構的理解を前進させるとともに、リボソームのエンジニアリング研究や無細胞合成生物学における細胞創成研究においても重要な基盤技術を提供するものであり、分子生物学、生化学、合成生物学分野の進展に大きく寄与するものであると評価できる。

よって本論文が博士の学位を授与するに値するものと認める。なお、チェックツール“iThenticate 2.0”を使用し、剽窃、引用漏れ、二重投稿等のチェックを終えていることを申し添えます。