絹タンパク質合成の分子機構に関する研究

内海利男[1]，八森 章[1]，中垣雅雄[2]，武井隆三[2]
[1]信州大学繊維学部高分子工業研究施設，[2]応用生物科学科

1．緒言

蚕の絹糸腺は、大量の絹タンパク質を高い効率で合成し、多くの生物種の中でも最も優れたシステムの一つを保有している。この高いタンパク質合成能は、応用生物学、生物工学、基礎生物学の広い領域に関連する魅力的な対象であるにもかかわらず、この分子機構の詳細についてはほとんど知られていない。本研究の目的は、高いタンパク質合成能に起因する要素を分子レベルで解明し、これを利用することにある。本年度は、タンパク質合成の母胎となる絹糸腺リボソームを活性を保持した状態で調製し、その構造面での特徴を解析した。

2．実験方法

5齢4-5日の蚕から絹糸腺を摘出し、細胞抽出を得た。これより差超遠心法によりリボソームを調製した。リボソーム亜粒子はリボソームをピューロマイシンとKCl処理し、しょ糖密度勾配遠心により分離・調製した。リボソームの活性は合成 poly (U) をmRNAとするpoly (Phe) 合成能により測定した。リボソーム RNA はリボソームよりフェノールを用いて抽出し、アガロースゲル電気泳動で分析した。リボソームタンパク質はリボソームより 66%酢酸中で抽出・調製し、二次元ポリアクリルアミドゲル電気泳動により分離解析した。

3．結果と考察

10 gの絹糸腺より、約20mg のリボソームが調製された。得られたリボソームはペプチド鎖伸長因子のソースとして絹糸腺細胞上清分画を用いた場合高いpoly (U) 依存 poly(Phe) 合成活性を示し、活性を保持したリボソームを調製することに成功した。しかし、ブタ肝由来の因子を用いた場合の活性は低かった（図1)。一方、ラット肝のリボソームはいずれの細胞由来の因子でも高い活性を示した（図1)。

このように、蚕リボソームでは蚕由来の翻訳因子に強い特異性がみられ、リボソーム側にこれに起因する特性があることが推察された。

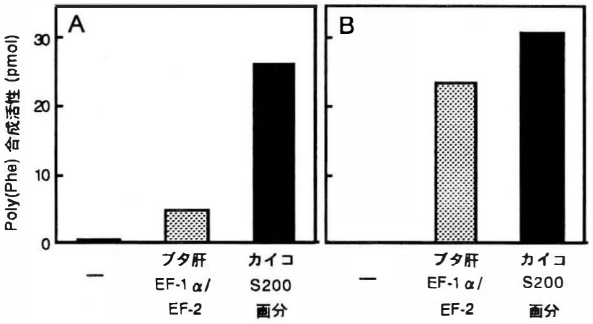

図1. 蚕絹糸腺(A)とラット肝臓(B)より調製したリボソームのpoly (U) 依存poly (Phe) 合成活性。翻訳因子として絹糸腺細胞上清(S200)またはブタ肝から調製した因子を用いた。

蚕リボソームを構成するrRNAとタンパク質成分を解析したところ、もっとも顕著な特徴として28S rRNA の中央での切断部位(hidden break)の存在である。ショ糖密度勾配遠心法により解析したサブユニットはラット同様40Sと60Sの沈降速度を示したことより、RNAに切断部位があるもののタンパク質成分(種数はラットと類似)の結合により、ラット同様のリボソームサイズを保持し、機能していることが示された。

4． 結論

蚕絹糸腺より、高い poly(Phe) 合成活性を保持するリボソームを調製した。活性を示す至適条件はラットのものと比較し、より限定的であり、リボソームの構造面の差に起因することが推察される。タンパク質成分の数はラットのものと類似していたが、28S rRNA成分の中央部位に切断部位が見らたが、タンパク質成分の結合により、ラット同様の粒子サイズ、活性を保持することが示された。