

絹タンパク質合成の分子機構に関する研究

内海利男¹, 中垣雅雄², 八森 章¹

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

細胞内のタンパク質合成の効率はリボソーム粒子中の特定機能部位である GTPase センターの働きとより制御されている。本研究は、絹タンパク質を高い効率で合成する蚕の絹糸腺リボソームに注目している。本年度は、GTPase センターを構成するタンパク質成分 P0, P1, P2 の分子構築とリボソーム機能への関わりに関して生化学的に解析した。

2. 実験方法

蚕の絹糸腺リボソームより、P0, P1, P2 を精製した。タンパク質を様々な組み合わせで混合し、タンパク質間相互作用およびリボソーム RNA の機能部位 (GTPase-RNA ドメイン) との結合性をポリアクリルアミド native ゲル電気泳動により分析した。また、タンパク質複合体の機能面を解析をするため、大腸菌のリボソーム中の相同タンパク質と蚕リボソームタンパク質を入れ替えたハイブリッドリボソーム系においてペプチド合成活性測定を行った。

3. 結果と考察

P0, P1, P2 を三者を混合することにより、安定な複合体を形成し (図 1A, lane 6, 1B)、この複合体はリボソーム RNA の GTPase ドメインに強く結合した。しかし、P1 または P2 非存在下では全く複合体形成は見られず、P1 と P2 の二量体形成の過程が P0 との結合に不可欠であることが示された。また複合体の正確な分子量測定より、82kDa であることが判明し、この複合体は P0(P1-P2)₂ の 5 量体であることが推測された。

複合体の機能を大腸菌リボソーム中の相同タンパク質 L10(L7/L12)₄ と入れ替えた、ハイブリッドリボソーム上で測定した (図 2)。大腸菌-蚕ハイブリッドリボソームは蚕の絹糸腺細胞の翻訳因子を受容し、poly(U)を鋳型として、poly(Phe)合成活性を

示した。しかし、大腸菌の翻訳因子は受容しなかった。この結果より、P0(P1-P2)₂ の複合体が蚕の翻訳因子受容性を決定する重要な機能単位であることが推察された。

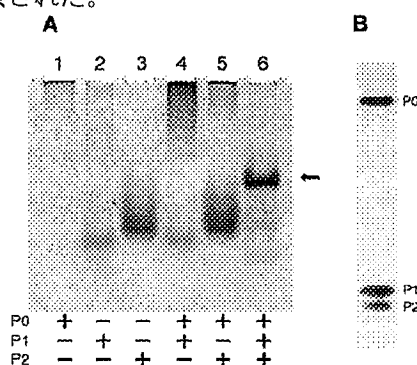


図 1. 蚕リボソームタンパク質 P0, P1, P2 の複合体形成。三者のタンパク質存在下により、複合体形成を示すバンドがアクリルアミドゲル電気泳動により観察される (A)。このバンドを切り取り抗 P 抗体を用いた immunoblot 分析により、これが三者の複合体であることが判明した。

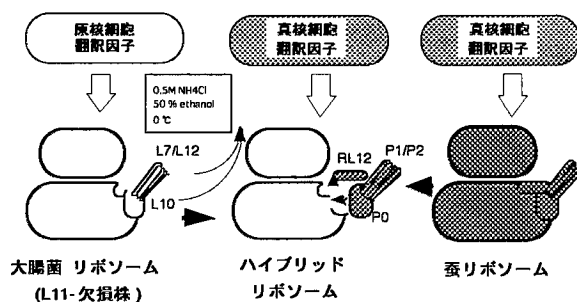


図 2. L11 タンパク質を含まない大腸菌リボソームより P0, P1, P2 の相同タンパク質 L10(L7/L12)₄ を特異的に遊離させ、蚕からの P0(P1-P2)₂ 複合体および大腸菌 L11 に対応する蚕 eL12 を結合させた。得られたハイブリッドは蚕の翻訳因子を受容する真核型の性質を示した。

4. 結論

蚕リボソームの GTPase センターを構成するタンパク質は P0(P1-P2)₂ の 5 量体を形成し、rRNA の特定部位と結合する。この rRNA 結合により、リボソームは蚕翻訳因子の受容性を獲得する。P0(P1-P2)₂ と翻訳因子間には GTPase-RNA ドメインを介して密接な機能協調性がある。