

目的別テーマ：蚕の保有する効率的タンパク質合成系の分子機構の解明

15年度研究テーマ

15-2-17 : 蚕タンパク質合成系の生化学的解析とその応用

ABSTRACT

*Silkworm (Bombyx mori) has an efficient protein synthesis system because silkworm can synthesize numerous silk proteins (fibroin) in a short period of time. By analyses of its "Ribosome" that plays a central role of protein synthesis in the cell, two unique base exchanges were detected in the GTPase domain, which is one of the functional ribosomal RNA domains highly conserved in all organisms. This domain is related with translational factors dependent GTP hydrolysis linked translational speed. Therefore, it is thought that an efficient protein synthesis ability of silkworm strongly arises from detected base exchange. Moreover, we also investigated the assembly mechanism of this domain binding proteins, P proteins (P0, P1, P2). Resultly, it was revealed that two P1-P2 hetero-dimers bound to two different regions of P0, one binding site existed in 55-65 amino acids and another site in 81-107 amino acids from C-terminus of P0.*

研究目的

蚕は短期間に大量の絹タンパク質（フィブロイン）を合成することから、極めて効率的な生体内タンパク質合成系を保有すると考えられる。この特徴は、生体内タンパク質合成反応（翻訳）の中核を担う“リボソーム”の性質に強く依存すると推測される。本研究の目的は、蚕の翻訳効率性に起因する性質を特定し、新規 *in vitro* タンパク質合成系の確立を睨んだ工学的応用化を検討することである。我々は、翻訳の速度に直結する翻訳因子依存のGTP加水分解反応に深く関与するリボソーム部位（GTPaseセンター）に注目しており、構成成分（RNA成分：GTPaseドメイン、タンパク質成分：P0, P1, P2）の生化学的結性質や分子集合状態の明確化、及びそれらがリボソーム機能を発現するメカニズムについて検討する。

一年間の研究内容と成果

蚕GTPaseドメインの塩基配列をプライマー伸長法を用いて分析したところ、全生物において高度に保存されている塩基が変化していることを発見した（Figure）。翻訳は基本的な反応機構は全生物で共通であると考えられており、その中枢となるリボソーム領域（RNAとタンパク質の両成分ともに）は保存性が高いのが一般的である。従って、蚕で検出されたこの塩基変化が蚕の効率的翻訳能に強く起因している可能性は高いと考えられる。

タンパク質成分の分子集合状態を解明するにあたり、P0のP1-P2ヘテロダイマー結合領域の特定を試みた。P0のC末端からアミノ酸を段階的に削除した変異P0タンパク質（Δ18, Δ55, Δ65, Δ81, Δ107：数字は削除したアミノ酸の数を示す）を遺伝子工学的手法を用いて作製し、これら変異P0とP1-P2を *in vitro* 再構成した後、Nativeゲル電気泳動による解析を行った。その結果、P1-P2結合領域はP0上の異なった二ヶ所存在し、一つはC末端から55-65アミノ酸領域に、もう一つは81-107アミノ酸領域に存在することが強く示唆された。

展望

RNA成分において検出された塩基置換の生物学的意味の解明は非常に興味深い課題であり、蚕の効率的タンパク質合成能を解き明かす鍵であると考えている。蚕型変異を導入した大腸菌の作製を試み、その培養特性や単離したリボソームの生化学的特性を比較・検討する予定である。一方、タンパク質成分に関して、P0のP1-P2ヘテロダイマー結合領域をおおまかに特定することができたが、正確な位置については帰属することができていない。さらなる変異導入実験を行い、より詳細な結合機構について明確にする予定である。また、RNAとタンパク質の両者の協調性を含めたそれらの分子集合状態やリボソーム機能との相関についても併せて解析し、蚕の効率的タンパク質合成能に起因する蚕リボソームの性質の特定を試みる。

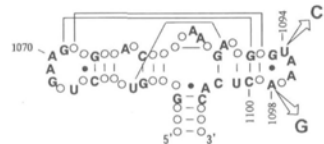


Figure GTPaseドメインの二次構造

全生物において普遍的に保存されている塩基と蚕において初めて検出された塩基を示す。塩基番号は大腸菌を参考にした。