

# 絹タンパク質合成の分子機構に関する研究

内海利男<sup>1</sup>, 中垣雅雄<sup>2</sup>, 八森 章<sup>1</sup>

<sup>1</sup>信州大学繊維学部高分子工業研究施設, <sup>2</sup>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。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、細胞内タンパク質合成装置機構であるリボソーム粒子の中で、機能面の主役を演じるリボソーム RNA (rRNA) に注目し、構造面の特徴を探った。rRNA は生物の種を超えてよく保存されることが知られているが、本研究では、一つの機能ドメインが蚕の仲間の昆虫では変化していることが判明した。この変化の機能面の意味を検討した。

## 2. 実験方法

蚕ゲノム DNA からのクローンの塩基配列を自動塩基配列解析装置により解析した。また、昨年度報告した方法により調製した、タンパク質合成活性を保持したリボソームより、28S rRNA を抽出し、一部の塩基配列をプライマー伸長法により確認した。その rRNA 部位に対応する部位を組み替え DNA を用いた *in vitro* 転写系により合成した。また PCR を用いて、部位特異的に塩基置換を行った。RNA とタンパク質の結合性は、ポリアクリルアミド native ゲル電気泳動により解析した。

## 3. 結果と考察

rDNA および rRNA の塩基配列解析の結果、一つの機能部位 (GTPase ドメイン) に蚕に特異的な配列が検出された。大腸菌 23S rRNA の U-1094 と A-1098 に対応する塩基はすべての生物種で保存していると考えられていたが、蚕や他の鱗翅類昆虫では C と G にそれぞれ変化していた (Fig. 1)。この部位が、タンパク質合成の速度を支配する GTP 水解反応に関わる機能部位であることから、この塩基の

変化の機能面の意義を解明することは意味深い。

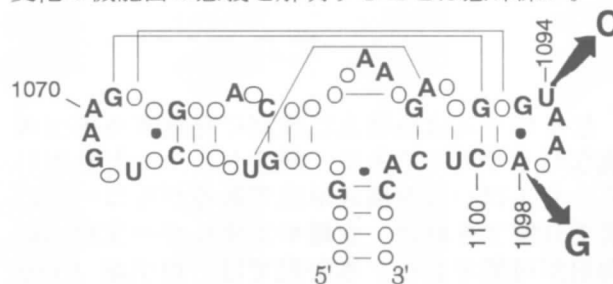


Fig. 1 Base substitutions detected at the highly conserved positions 1094 and 1098 within the GTPase-associated domain of silkworm 28S rRNA. A, G, C, and U represent bases conserved (>90 %) in Archaea, Bacteria, Eucarya, and chloroplast. Circles indicate bases changed during evolution.

蚕 GTPase ドメインを含む RNA 断片は、native ゲル電気泳動では、二つの分離したバンドとなって見られた。この RNA には、真核生物の一般型 GTPase ドメインの高次構造を認識する抗 28S-抗体の結合性は低かった。蚕に特徴的な塩基 C-1094 と G-1098 を一般型塩基 U と A に置換することにより、RNA は一本のバンドになり、抗体との結合性も増強した。これらの結果は、蚕型 GTPase ドメインは C-1094 と G-1098 の塩基によってその高次構造が不安定になっていることが推察された。また、リボソームタンパク質 L12 の結合により、蚕型 RNA は一本のバンドにシフトすることより、このタンパク質により安定化することが示された。

## 4. 結論

蚕や他の鱗翅類昆虫では、タンパク質合成の速度に関与するリボソーム RNA 部位、GTPase ドメインの構造がユニークであり、高度に保存された塩基 U-1094 と A-1098 が C と G にそれぞれ変化している。これらの特徴的塩基により RNA ドメインの高次構造とその動態に影響を与えることが示された。