



平成 30 年 7 月 19 日

新 潟 大 学

リボソーム触手様タンパク質の新機能解明 -多様なはたらきをもたらす分子基盤-

本学自然科学系（理学部）の内海利男教授、伊東孝祐助教、大学院学生の今井大達らの研究グループは、mRNAの情報を読みとり蛋白質を合成した後、サブユニットに解離・リサイクルされるリボソーム中の“触手様蛋白質” P1がABCE1と呼ばれるATP結合性因子を捕獲しリボソームの特定部位にリクルートし、ATPの加水分解を誘発させてリボソームをサブユニットに解離させることを証明しました。触手様蛋白質が、蛋白質合成の開始、伸長、終結の段階ばかりでなくリサイクルにもはたらくことを初めて明らかにしました。

【本研究成果のポイント】

- リボソーム触手様蛋白質とABCE1因子の結合性の検出
- 結晶構造解析による触手様蛋白質と ABCE1の結合機構の解明
- リボソーム上の触手様蛋白質とABCE1に依存したATP加水分解の証明
- 触手様蛋白質とABCE1間相互作用に依存したリボソーム解離の検出

I. 研究の背景

蛋白質合成は動的で多くのエネルギーを必要とする反応です。リボソームのもとに、mRNAやアミノ酸を結合したtRNA、その他、エネルギー物質である GTPとこれと結合する各種因子が巧妙に調整されて作用し、アミノ酸が連結し蛋白質が作られています。この蛋白質合成は生命の基本的イベントであり、この仕組みの詳細を分子レベルで解明することは、多様な生命現象を理解するうえでの必須事項であり極めて重要な課題です。2000年前後にリボソーム粒子の結晶構造解析がなされ、構造面の知見が飛躍的に増えましたが、蛋白質合成の動的分子機構に関する情報は少なく、重要な課題となって残されています。

蛋白質合成は開始、伸長、および終結の段階を経て合成されるが、これら段階では特有のGTP結合性因子がリボソームの特定機能部位に作用します。GTP結合性因子のリボソームへのリクルートにはストックと呼ばれるリボソーム中に複数コピー存在する蛋白質が関与することが知られています。内海らは、真核生物や古細菌では、ストック蛋白質はC末端部分が天然変性型で柔軟性に富み、各種GTP結合性因子をリボソームにリクルートすることから、“触手様蛋白質”と呼び、その作用機構を解析してきました（図1）。最近、触手様蛋白質P1と各種GTP結合性因子間複合体の結晶構造を解析し、P1のC末端部位が、①アミノアシル-tRNAをリボソームに運ぶEF1A（伊東ら：Nucleic Acids Res. 2014）、②リボソーム上でtRNAを移動させるEF2（丹澤ら：Nucleic Acids Res. 2018）、③蛋白質合成の開始反応に関わるIF5B（村上ら：Mol. Cell

Biol. 2018)、の各因子それぞれの疎水性領域の溝に結合し、リボソームへのリクルートとそれに伴う GTP加水分解に寄与することを報告しました (図1)。

蛋白質合成では、開始、伸長、終結反応に加えて、もう一段階の重要なステップがあります。それは、蛋白質合成後にリボソームがサブユニットに解離し、再利用が可能な状態にするリサイクル反応です (図2)。この反応は、生命維持にとって不可欠で、最近の分子生物学分野でも注目される生体イベントの一つとなっています。真核生物や古細菌のリボソームリサイクル反応にはABCE1と呼ばれるATP結合性因子が重要な役割を果たすことが知られていますが、その因子のリボソームへのリクルート機構、ATPの加水分解誘発機構、そしてサブユニットへの解離機構、についての詳細は解明されていません。本研究で本学自然科学研究科大学院生の今井 (博士後期課程3年) と理学部の内海教授、伊東助教らは、ABCE1の作用機構を解析し、リボソーム触手様蛋白質のC末端部とABCE1との相互作用がリボソームリサイクルに寄与することを初めて証明しました。

II. 研究の概要と成果

本研究では、古細菌由来のサンプルを用い、リボソーム触手様蛋白質 (P1) のC末端部位が、リボソームリサイクル因子であるABCE1と結合することを生化学的手法で立証しました (図1)。さらに、P1のC末端部位のペプチドとABCE1から成る複合体を結晶化し、構造を解析しました。その結果、P1のC末端ペプチドは、NBD1とNBD2の類似の2ドメインからなるABCE1のうちNBD1ドメインの疎水性領域に結合することを示しました。そしてリボソーム上にもたらされたABCE1はATPの加水分解が誘発されますが、この誘発にはP1のC末端部位削除体では検出されず、ABCE1の機能誘発にP1のC末端部位との相互作用の重要性が示されました。この見解は、ABCE1の酵母のオーソログであるRii1を用いた実験でも立証され、古細菌と真核生物間で保存されたイベントであることが判明しました。

本研究で最も注目すべき点は、リボソーム触手様蛋白質がリボソームリサイクルに寄与することを初めて立証した点です。さらに興味深い点として、触手様蛋白質の同じC末端部が複数の異なるGTP結合性因子、さらに、ATP結合性因子とも結合して、GTP/ATPの加水分解を誘発することです (図1)。各因子とC末端部複合体の結晶構造解析の比較により、触手様蛋白質のC末端部は、驚くべきことに、各因子の構造に応じて形を変化させていました。すなわち、触手様蛋白質はその形を変えて各種因子と自在に結合して、リボソームの機能部位に因子をリクルートし、蛋白質合成の各ステップを促進させると考えられます。リボソーム蛋白質の機能に関する概念を塗り替える知見が得られました。

III. 今後の展開

触手様蛋白質はリボソーム中に複数コピー存在しますが、今後、各コピーの因子受容性における役割や協調性を分子レベルで探り、蛋白質合成の動態に関する新規学術研究の展開が期待されます。また本研究の成果は、蛋白質医薬品等の生産に役立つ蛋白質合成系の開発に活用されます。さらに触手様蛋白質は、自己免疫疾患で免疫の標的となることが知られており、本研究は自己抗体産出の機構を探る研究や新たな抗体産出技術の開発 (内海ら: 特願2016-120039号) にも役立てられます。

IV. 研究成果の公表

これらの研究成果は、Nucleic Acids Research 誌 (Impact Factor: 11.56) に平成 30 年 7 月 13 日 (金) オンライン掲載されました。

論文タイトル: The ribosomal stalk protein is crucial for the action of the conserved ATPase ABCE1

著者: Hirotatsu Imai, Takaya Abe, Tomohiro Miyoshi, Shuh-ichi Nishikawa, Kosuke Ito, and Toshio Uchiumi

doi: 10.1093/nar/gky619

図 1

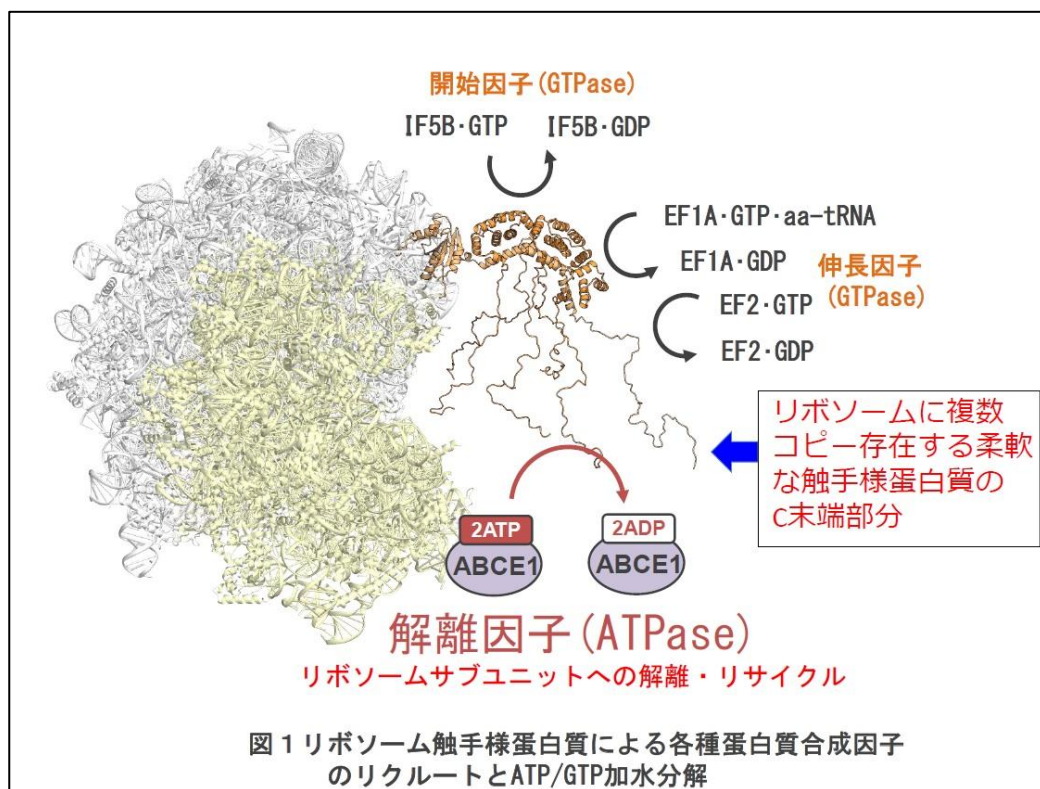
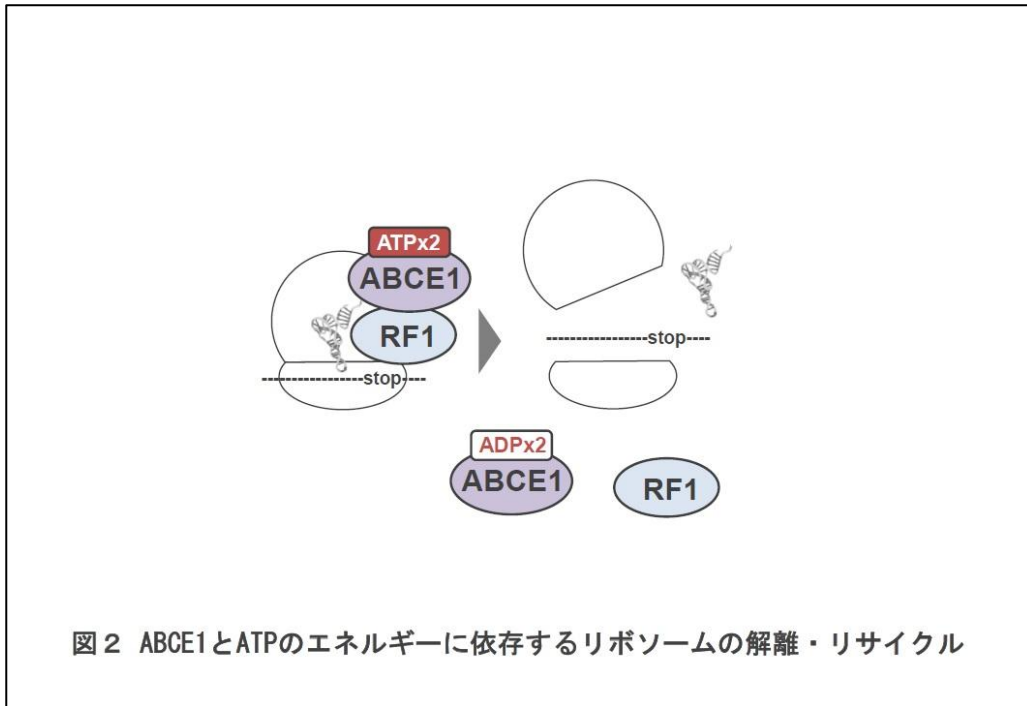


図 2



本件に関するお問い合わせ先

新潟大学理学部 内海利男（教授）

E-mail : uchiumi@bio.sc.niigata-u.ac.jp

同 伊東孝祐（助教）

E-mail : k-ito@bio.sc.niigata-u.ac.jp