

リボソームストークタンパク質と翻訳伸長因子 EF1 α の 機能的相互作用の構造基盤

Structural basis for the functional interaction of the ribosomal stalk protein with elongation factor 1 α

伊東 孝祐^{1,*}、本田 貴嘉¹、鈴木 隆寛¹、三好 智博¹、村上 僚¹、
姚 閔²、内海 利男¹

¹新潟大学理学部生物学科、〒950-2181 新潟県新潟市西区五十嵐 2 の町 8050

²北海道大学大学院先端生命科学研究所、〒060-0810 北海道札幌市北区北 10 条西 8
Kosuke Ito¹, Takayoshi Honda¹, Takahiro Suzuki¹, Tomohiro Miyoshi¹, Ryo Murakami¹,
Min Yao², and Toshio Uchiumi¹

¹Department of Biology, Faculty of Science, Niigata University, 8050 Ikarashi 2-no-cho, Nishi-ku,
Niigata 950-2181, Japan

²Faculty of Advanced Life Science, Hokkaido University, Kita-ku, Kita-10, Nishi-8,
Sapporo 060-0810, Japan

1 はじめに

翻訳反応は、リボソームが様々な翻訳因子と機能的に相互作用することで進行する。リボソームには“ストーク”と呼ばれる柔軟な突起構造が存在し、翻訳因子の機能発現に重要な役割を果たしている。我々は最近、古細菌由来ストークタンパク質 aP1 の C 末端部位が、翻訳因子である aEF1 α 、aEF2 および aIF5B と直接相互作用することを明らかにした。また、真核生物由来ストークタンパク質 P1/P2 の C 末端部位の変異は、翻訳因子の活性を著しく低下させることも明らかにした。これらのことから、ストークタンパク質と翻訳因子の相互作用が、翻訳因子の機能発現に重要な役割を果たしていることが明らかになった (図 1)。しかし、この相互作用がどのように翻訳因子の機能発現に関与するのか、そのメカニズムは不明である。特に、EF1 α /EF-Tu についての知見は少なく興味深い。そこで、我々は今回、aP1 の C 末端部位と GDP 結合型 aEF1 α の複合体の構造を、X 線結晶構造解析により解析した。

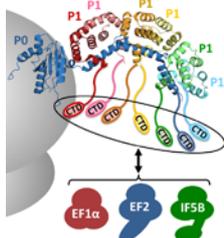


図 1 リボソームストークと翻訳因子の相互作用

2 実験

aEF1 α は古細菌 *P. horikoshii* 由来のものを大腸菌を用いて発現・精製した。また、aP1 の C 末端部位としては、aEF1 α との相互作用に関わる 32 残基を含むペプチド (aP1(C32)) を化学合成して使用した。以上の aEF1 α と aP1 を混合し、100 mM Hepes-NaOH,

pH 7.5, 10% (w/v) PEG6000, 5% (v/v) 2-methyl-2,4-pentanediol からなる溶液を使用することで、蒸気拡散法により、aP1(CTD)•aEF1 α •GDP 複合体の結晶を得た。測定は BL-5A、NW12A にて行った。結晶は空間群 C2 に属し、格子定数は、 $a = 157.26$, $b = 87.42$, $c = 82.46$ Å, $\beta = 92.3^\circ$ 、分解能は 2.3 Å であった。

3 結果および考察

aP1 は aEF1 α のドメイン 1 (GTP/GDP 結合ドメイン) とドメイン 3 の間に結合し、それらのドメインを架橋していることが明らかになった (図 2)。aEF1 α は GTP 加水分解に伴いドメイン 1 が大きくシフトすることが知られているが、aP1 はドメイン 1 と 3 を架橋することで GDP 結合型の aEF1 α の構造を安定化させ、そのことで aEF1 α の GTP 加水分解に伴う反応を促進していると考えられる。さらに我々は、真核生物由来のストークタンパク質と EF1 α を使用した活性測定を行った。その結果、ストークタンパク質と EF1 α 間の機能的な相互作用は、古細菌と真核生物間で保存されていることが示唆された。

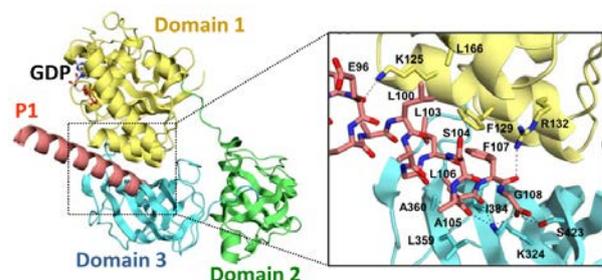


図 2 aP1 と aEF1 α の相互作用

参考文献

Ito, K. et al., *Nucleic Acids Res.*, **42**, 14042-52 (2014)

* k-ito@bio.sc.niigata-u.ac.jp