

リボソームと翻訳伸長因子の相互作用についての構造生物学的考察
Structural Basis for Interactions of the Ribosome with the Switch Regions of GTP-bound
Elongation Factors

竹本千重¹、Connell SR²、Wilson DN³、王宏飛¹、村山和隆^{1,4}、寺田貴帆¹、
白水美香子¹、Fucini P³、Spahn CMT²、横山茂之^{1,5}

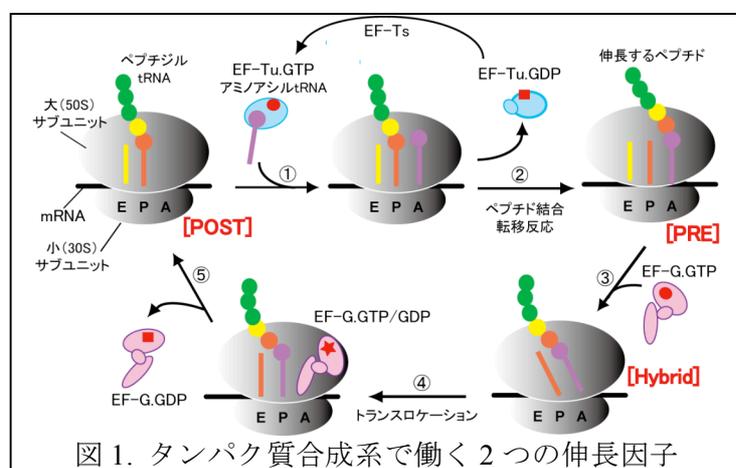
Takemoto C¹、Connell SR²、Wilson DN、Wang H. Murayama K. Terada T,
Shirouzu M, Fucini P, Spahn CMT, Yokoyama S.

¹理研 GSC タンパク質基盤研究グループ, ²シャリティ・ベルリン医科大学, ³マックス
プランク分子遺伝研, ⁴東北大学先進医工学研究機構, ⁵東大・院理
(¹RIKEN GSC, ² Institut für Medizinische Physik und Biophysik, Charite Univ. ³AG
Ribosomen, MPIMG⁴ TUBERO, Tohoku Univ. ⁵Grad. Sch. Sci. Tokyo Univ.)

E-mail: chie@gsc.riken.jp

リボソームには、tRNA が結合する部位が 3 ケ所 (A 部位、P 部位、E 部位) あり、タンパク質が合成されるにしたがって、tRNA は mRNA と共にリボソーム上を A→P→E と移動する (図 1)。その間リボソームは POST (A 部位が空で、ペプチジル tRNA が P 部位を占めている安定な状態) と PRE (P 部位のペプチジル基が A 部位のアミノアシル tRNA に転移した状態) の 2 つの状態を繰り返しながらペプチド結合を伸ばしていく。全生物が共通に保持している翻訳伸長因子(elongation factor: EF) EF-Tu と EF-G は、この反応で重要な働きを担う GTP 加水分解酵素である。

タンパク質が合成される過程では、まず EF-Tu が、POST 状態のリボソームの A 部位に、コドンと対合するアミノアシル tRNA(aa-tRNA)を aa-tRNA・EF-Tu・GTP 複合体として運び入れ①、リボソーム上で EF-Tu が GTP を加水分解すると同時に、aa-tRNA は A 部位に完全に収めらる。即座に、リボソームが P サイトのペプチジル tRNA から A 部位の aa-tRNA へと、ペプチド結合転移反応を行い、A 部位に 1 つ長くなったペプチジル tRNA が生成する② (GTP を加水分解した後、EF-Tu・GDP は、リボソームを離れ、ヌクレオチド交換因子 EF-Ts の助けをかりて、EF-Tu・GTP となってリサイクルされる)。EF-G は、この PRE 状態のリボソームに、GTP 依存的に結合し③、A 部位、

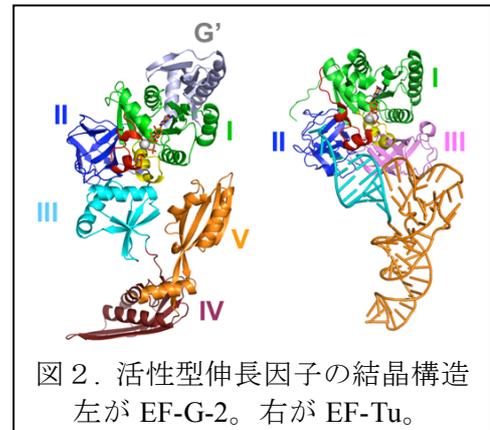


P 部位にある tRNA をそれぞれ P 部位、E 部位へ移動させて、POST 状態を作り出し④、リボソームから解離する⑤と、ペプチド鎖が 1 つ伸びたペプチジル tRNA が P 部位に配置される。この反応をトランスロケーションと呼ぶ。POST 状態のリボソームに、EF-Tu が次の aa-tRNA を運び込

んで、タンパク質合成が進んでいく。リボソームと伸長因子の複合体は、超低温電子顕微鏡(cryoEM)や化学修飾法によって数多くの構造解析がなされているが、いつどのように GTP の加水分解が起こるのかについては、まだ結論が出ていない。また、EF-G・GDP は、どのように EF-G・GTP に変換されるのか、GTP-GDP 交換でどのような構造変化が起こるのか、何のために GTP 加水分解が行われるのかも明らかになっていない。

今回、我々は、GTP が結合した EF-G-2 (EF-G ホモログ) の X 線結晶構造解析に成功し、長年謎であった EF-G の GTP 加水分解に最も重要な switch 1 の構造を明らかにした。この switch 1 は、結晶中ではドメイン III や隣の分子と相互作用しているが、EF-Tu の場合は tRNA と相互作用している (図 2)。

さらに、高度好熱菌 *T. thermophilus* HB8 の 70S リボソーム・EF-G・GMPPNP の複合体の cryoEM による高分解能解析(7 Å) によって switch 1 が、リボソーム上では 16S rRNA のヘリックス h14 と相互作用していることが、新たに明らかになった。つまり、EF-G は GTP を携えてリボソームに結合して初めて活性型構造が安定になることが示されたのである。また、伸長因子の GTP 加水分解反応に関与すると考えられている 23S rRNA の 2 つのヘリックス H89 と H95 のうち、サルシンリシンループとも呼ばれる H95 は、スイッチ領域と明確に相互作用しており、GTP 加水分解への直接の関与が示唆された。また、今回得られた 70S の構造では、50S と 30S の相対的位置が、最近ようやく合意を得た[Hybrid]と呼ばれる状態に類似しており^[2]、この時 EF-G が 23S rRNA の H95 と 16S rRNA の h14 と同時に相互作用することによって、活性型構造が安定化され、次いで GTP の加水分解が起こるという解釈は、EF-G の GTP 加水分解活性が、PRE 状態のリボソームによって選択的に促進されるという実験結果と整合性がある。すなわち、リボソームが PRE あるいは Hybrid 状態のときに、EF-G にとって h14 と H95 が適切に配置され得るのである。GTP の加水分解が起こり、分解されたリン酸が外れると、GTP 結合部位の構造は解放され、EF-G・GDP となってリボソームから解離するが、この時リボソームは、より安定な POST 状態になっている。つまり、EF-G はリボソームが PRE 状態から、POST 状態に移行するまでの間、GTP 結合部位の構造を保持して、tRNA が逆戻りしないための「歯止め (Ratchet)」の役割を果たしているのである。



Reference

- [1] Connell SR, Takemoto C, Wilson DN, Wang H, Murayama K, Terada T, Shirouzu M, Rost M, Schuler M, Giesebrecht J, Dabrowski M, Mielke T, Fucini P, Yokoyama S, Spahn CMT. (2007) *Molecular Cell* **25**, 751-764.
- [2] Ermolenko DN, et. al. The antibiotic viomycin traps the ribosome in an intermediate state of translocation. (2007) *Nat Struct Mol Biol.* **14**, 493-497.