

2007年3月15日

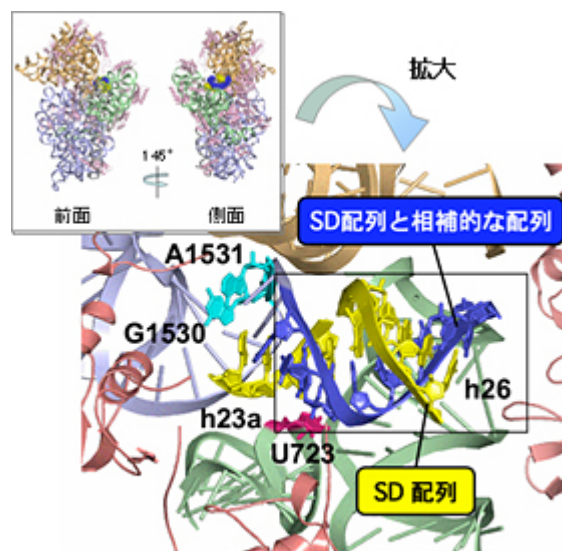
独立行政法人 理化学研究所
ドイツ マックスプランク研究所

タンパク質生合成の最初の瞬間を捉えることに成功

- リボソームとシャイン・ダルガーノ (SD) 配列の超分子複合体 -

タンパク質は私たちの体をつくるだけではなく、その内部で起きるあらゆる生命現象の主演です。そのタンパク質の製造工場である「リボソーム」では、遺伝子である「DNA」から「メッセンジャーRNA」に写し取られた情報を鋳型として、生命の設計図に従った種類と量のタンパク質を作り出しています。この仕組みを使って、難病の原因解明や治療薬の開発、食糧増産に欠かせない品種の改良などが実現し、人類が抱える様々な問題の解決に役立っています。ところが、このように生命の根幹を支えるタンパク質の生合成が、どのようなメカニズムで始まっているのか、その詳細はよくわかっていませんでした。

理研ゲノム科学総合研究センターのタンパク質構造・機能研究グループとドイツ・マックスプランク研究所は共同で、タンパク質生合成の最初のステップにおいて、メッセンジャーRNAの「シャイン・ダルガーノ (SD) 配列」と呼ばれる重要な配列が、リボソームを構成するRNAの相補的な配列と2重らせん構造を形成しており、この2重らせん構造をリボソームが認識していることを解明しました。これは、SD配列がリボソームに結合した複合体の結晶を高分解能で解析し、その立体構造を明らかにしたもので、今まで謎だった遺伝子発現調節の様子を知ることにもなりました。



(図) SD配列が形成する2重らせん構造を認識しているリボソーム

2007年3月15日

独立行政法人 理化学研究所
ドイツ マックスプランク研究所

タンパク質生合成の最初の瞬間を捉えることに成功

- リボソームとシャイン・ダルガーノ (SD) 配列の超分子複合体 -

◇ポイント◇

- ・リボソームが SD 配列を認識する機構を X 線結晶構造解析により分子レベルで解明
- ・ mRNA は SD 配列を介してリボソームに結合した後に 3' 側（後方）へと移動
- ・タンパク質生合成の開始制御に mRNA の 2 状態の平衡が重要な役割を果たす

独立行政法人理化学研究所（野依良治理事長）とドイツのマックスプランク研究所（ペーター・グルース会長：President Dr. Peter Gruss）は共同で、タンパク質生合成の鋳型となるメッセンジャーRNA（mRNA）が持つ「シャイン・ダルガーノ(SD)配列」が、原核生物^{*1}リボソーム^{*2}の 30Sサブユニット^{*3}と超分子複合体を形成した状態を捉えることに成功し、これまで知られていなかった結合部位と結合様式を解明しました。これは理研ゲノム科学総合研究センター（榊佳之センター長）タンパク質構造・機能研究グループの横山茂之プロジェクトディレクター、竹本千重上級研究員、上西達也リサーチアソシエイトとマックスプランク研究所のパオラ・フッチーニ（Dr. Paola Fucini）のグループによる研究成果です。

1974年にオーストラリアのJ・シャイン（J. Shine）とL・ダルガーノ（L. Dalgarno）は、バクテリオファージ^{*4}のmRNAが開始コドン^{*5}の上流にプリン^{*6}に富んだ共通の配列を持つことを見出しました。さらに、リボソームの 30Sサブユニットの主成分である 16S リボソームRNA（rRNA）が、3'末端に相補的な配列を持つことから、両者が塩基対を形成することにより、mRNAを鋳型としたタンパク質の生合成が促進される、という仮説を提唱しました。この仮説は後に証明され、分子生物学の根幹をなす概念の1つとして広く知られてきました。また、これらの配列は発見者の名前から、mRNA側がシャイン・ダルガーノ（Shine-Dalgarno、略してSD）配列、16S rRNA側がアンチ・シャイン・ダルガーノ（anti-Shine-Dalgarno、略してanti-SD）配列と呼ばれています。しかし、実際にどこでどのようにSD配列がanti-SD配列と相互作用し、30Sサブユニットに認識されるのかは不明でした。

今回、30SサブユニットにSD配列が結合した超分子複合体の結晶構造を3.3Å（オングストローム）の高分解能^{*7}で決定したところ、互いに相補的なSD配列とanti-SD配列が2重らせん構造（SDヘリックス）を形成し、研究グループが「chamber」と名付けたくぼみにすっぽりとはまり込んでいました。またその認識には、16S rRNAの特定のヌクレオチド残基や2重らせん構造が寄与していました。さらに、これまでに報告されている実験の結果も考慮すると、mRNAはSD配列を介して30Sサブユニットに結合した後、開始コドンを含む下流の領域が引き続き30Sサブユニットに結合するのに伴って、3'側（後方）に移動する、と解釈できました。またこの際には、chamber内に収まったSDヘリックスがその外に出る必要があることから、mRNAがこれらの2状態の平衡で存在し、タンパク質生合成の開始段階の制御に重要な役割を果たしていることを初めて提唱しました。

本研究成果は、わが国で推進している「タンパク 3000 プロジェクト」の一環として行われたもので、米国の学術雑誌『Structure』3月号の表紙を飾ります。

1. 背景

細胞内の生命現象の主役であるタンパク質は、あらゆる生物で共通の細胞内小器官「リボソーム」で作られています。リボソームは、DNAからメッセンジャーRNA (mRNA) に転写された遺伝情報を、トランスファーRNA (tRNA) を用いて解読し、対応するアミノ酸を連結することで、タンパク質を合成します (図1)。リボソームは、4,500 残基にも及ぶ RNA 分子と 50 種類以上のタンパク質が複雑に組み合った超分子複合体であり、サブユニットと呼ばれる大小 2 つの塊に分けることができます。このうち小 (30S) サブユニットは、約 1,500 残基の RNA 分子と 20 種類以上のタンパク質で構成され、タンパク質生合成の鋳型となる mRNA が通るための溝を持っています。この mRNA の遺伝情報をタンパク質に正しく翻訳するためには、まず読み始めの位置を正しく決定することが重要です。すなわち、タンパク質生合成の開始段階において、mRNA の開始コドンが開始用の tRNA のアンチコドン (34 番目から 36 番目の 3 文字の塩基配列) と正しく対合する必要があります。その最初のステップとして、mRNA が 30S サブユニットに結合する際に重要な役割を果たすのが、「シャイン・ダルガーノ (SD) 配列」です。

1974 年にオーストラリアの J・シャインと L・ダルガーノは、バクテリアに感染するバクテリオファージの mRNA が、開始コドンの上流にプリンに富んだ配列を共通に持つことを見出しました。さらに、30S サブユニットの主成分である 16S リボソーム RNA (rRNA) が、3'末端に相補的な配列を持つことから、両者が塩基対を形成して結合することにより、mRNA を鋳型としたタンパク質の生合成が促進される、という仮説を提案しました。その後、この仮説は多くの科学者によって証明され、これらの配列は発見者の名前から、mRNA 側がシャイン・ダルガーノ (SD) 配列、16S rRNA 側がアンチ・シャイン・ダルガーノ (anti-SD) 配列と呼ばれています (図2)。しかし、実際にどこでどのように SD 配列が anti-SD 配列と相互作用しているのかは不明でした。

2. 研究手法と成果

研究グループは、SD配列がリボソームの 30Sサブユニットに認識されている瞬間を捉えるために、プリンに富む 6 残基のオリゴヌクレオチド (5'-GAAAGA-3') が 30Sサブユニットに結合している超分子複合体のX線結晶構造解析を行いました。具体的には、高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 (サーマス サーモフィラス エイチビーエイト) の 30Sサブユニットを精製し、オリゴヌクレオチド存在下で得られた結晶を用いて、放射光科学研究施設 Photon Factory (大学共同利用機関法人 高エネルギー加速器研究機構) の BL-5A と NW12A、大型放射光施設 SPring-8 の BL41XU と BL44XU、スイスの Swiss Light Source の X06SA の各ビームラインで X線回折実験を行い、3.3Å (オングストローム) の分解能で立体構造を決定しました (図3)。まず明らかになったのは、30Sサブユニットの head と platform と呼ばれるドメイン (大きな構造単位) の間に、2 重らせん構造がすっぽりとはまり込んでいることでした。詳細に調べてみると、2 分子のオリゴヌクレオチドが縦列して SD 配列を模し、anti-SD 配列と塩基対を形成していることがわかりました。この 2 重らせん構造 (SDヘリックス) は、研究グループが「chamber」と名付けた空間に収まっており、その認識には 16S rRNA の高度に保存されたヌクレオチド残基や 2 重

らせん構造が関与していました（図4）。

一方、この結果から予測されるmRNAの開始コドンの位置は、そのままでは開始用のtRNAのアンチコドンとの相互作用には適さないものでした。しかし、mRNAの30Sサブユニットへの結合についてこれまでに報告されている実験の結果を考慮すると、「mRNAはSD配列を介して30Sサブユニットに結合した後、開始コドンを含む下流の領域が30Sサブユニットの溝に結合するのに伴って、3'側（後方）に移動する」と解釈できることがわかりました。またこの際には、chamber内（in）に収まったSDヘリックスがその外（out）に出る必要があります。そこで研究グループは、mRNAがこれらの2状態（SD_{in}およびSD_{out}）の平衡で存在しており、タンパク質合成の開始制御に重要な役割を果たしていることを、初めて提唱しました（図5）。

3. 今後の展開

タンパク質合成を正確に行うためには、その開始段階は非常に重要です。もしmRNAの遺伝情報を読み始める位置がずれてしまうと、異常なタンパク質が蓄積し、細胞にとって毒となる可能性もあります。逆に、SD配列を介したタンパク質合成の開始機構は、多くの病原菌が属する原核生物に特有のものなので、それを特異的に阻害する物質をSBDD^{*8}などにより探索することができれば、真核生物であるヒトには無毒な抗生物質としての応用も考えられます。その点でも、研究グループがSDヘリックスの結合部位および結合様式を高分解能で決定したことや、タンパク質合成の開始制御におけるSD_{in}とSD_{out}の平衡の重要性を提唱したことは、非常に大きな意味を持ちます。

今後、長いmRNAやタンパク質合成の開始段階に関与する因子との相互作用が、リボソームに結合した超分子複合体のX線結晶構造解析などにより進み、研究グループが提唱した仮説が証明されれば、既存の分子生物学の教科書を書き換えるような成果につながることを期待されます。

（問い合わせ先）

独立行政法人理化学研究所 横浜研究所

ゲノム科学総合研究センター

タンパク質構造・機能研究グループ

プロジェクトディレクター 横山 茂之

（よこやま しげゆき）

Tel : 045-503-9196 / Fax : 045-503-9195

タンパク質構造・機能研究グループ

リサーチアソシエイト 上西 達也

（かみにし たつや）

Tel : 045-503-9196 / Fax : 045-503-9195

横浜研究所推進部 企画課

Tel : 045-503-9117 / Fax : 045-503-9113

(報道担当)

独立行政法人理化学研究所 広報室 報道担当

Tel : 048-467-9272 / Fax : 048-462-4715

Mail : koho@riken.jp

<補足説明>

※1 原核生物

生物の分類のひとつであり、細胞に核を持たない原核細胞からなる生物を指す。

※2 リボソーム

細胞内に存在するタンパク質合成を担う超分子複合体で、リボソーム RNA とリボソームタンパク質からなる。

※3 30S サブユニット

原核細胞のリボソームは、沈降係数（大きさの指標）から 50S および 30S と呼ばれる大小 2 つのサブユニットから構成されている。

※4 バクテリオファージ

ウイルスのうち、細菌に感染するもの。

※5 開始コドン

mRNA のコドン（3 文字の塩基配列）のうち、タンパク質合成の開始を指定するもので、メチオニンに対応する AUG が使われることが多い。

※6 プリン

DNA や RNA を構成するヌクレオチド（残基）のうち、アデニンやグアニンの塩基を総じてプリンと呼ぶ。

※7 高分解能

Å（オングストローム： 1×10^{-10} メートル（=0.1 ナノメートル））の単位を用いて表し、この数字が小さいほど分解能が高く、より精度の高い高解像度であることを示す。

※8 SBDD

Structure Based Drug Design（立体構造情報に基づく薬剤設計）の略。ある疾病関連タンパク質が特定された場合、その立体構造から引き出される情報を利用することにより、合理的な薬剤設計を行うことを可能にする。PC クラスター等の大規模計算機システムとの組み合わせにより、短期間・低コストでの創薬が可能になる。

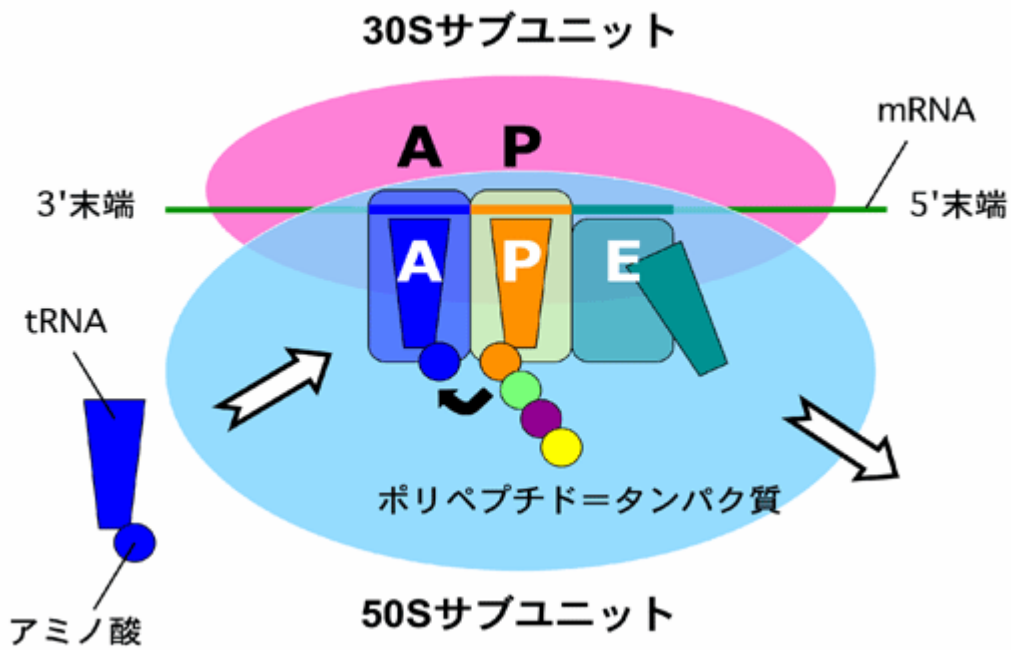


図1 タンパク質合成装置リボソーム

アンチ・シャイン・ダルガーノ (anti-SD) 配列

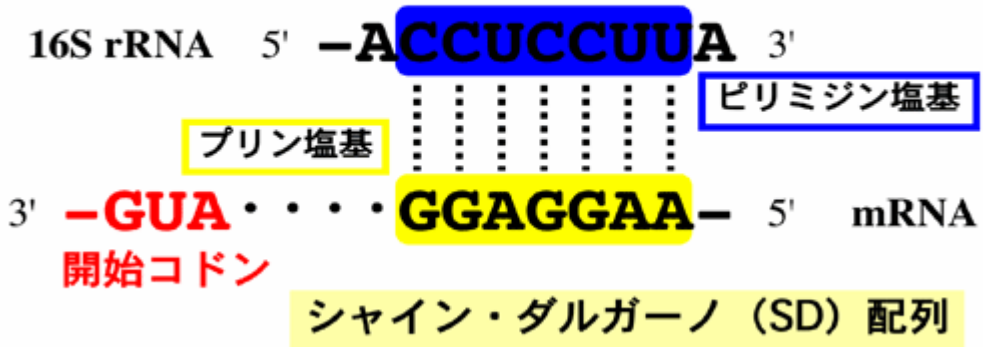


図2 シャイン・ダルガーノ配列

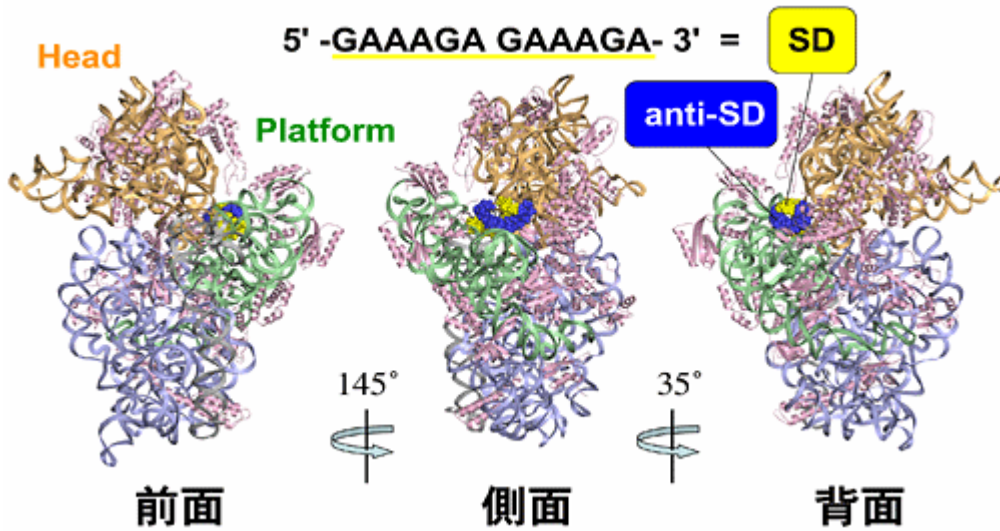


図3 SD配列が結合した30Sサブユニットの結晶構造 (3.3Å)

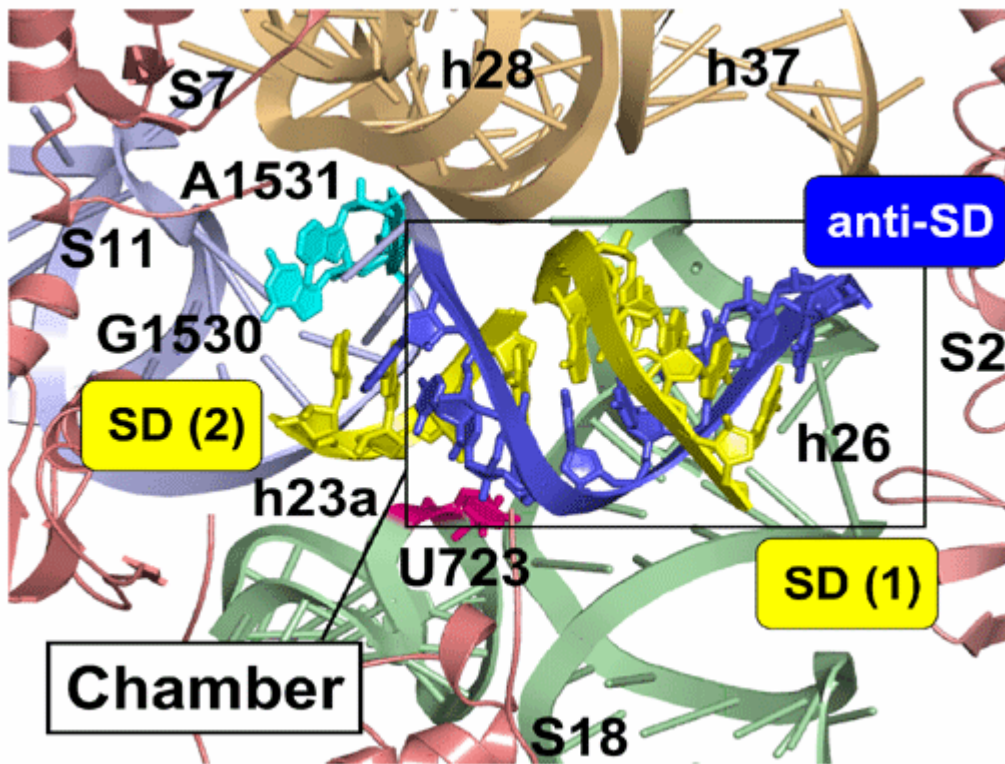


図4 Chamberに結合したSDヘリックス

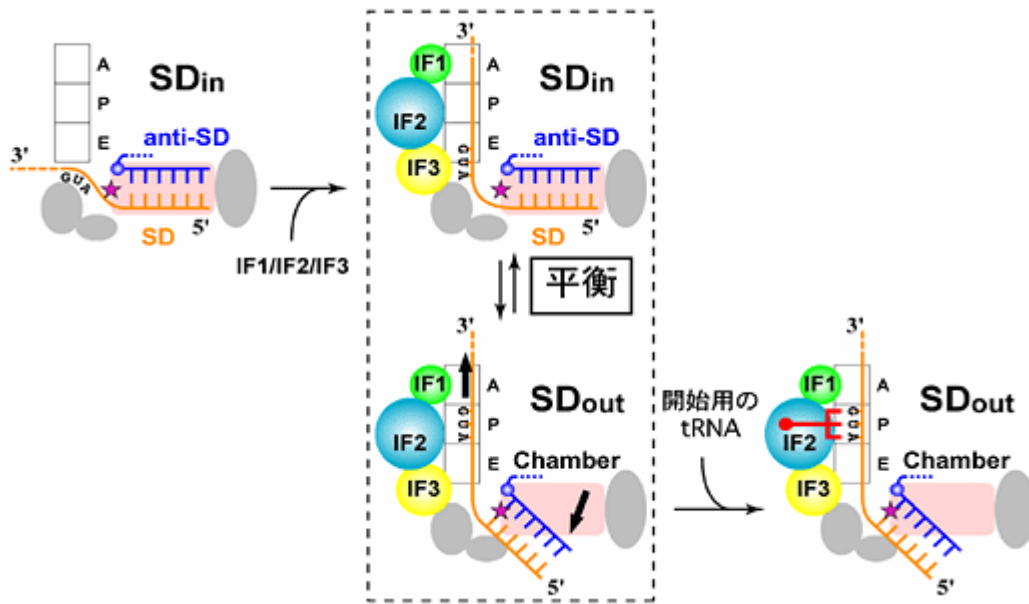


図5 タンパク質合成の開始制御のモデル