

環境とバイオテクノロジー
2021 年度採択研究者

2021 年度 年次報告書

高田 啓

京都産業大学 タンパク質動態研究所
研究員

温故知新、翻訳装置に内在する微生物環境応答機構の理解

§ 1. 研究成果の概要

Cryo-EM や無細胞タンパク質合成系などの革新的技術の発展に伴い特に翻訳研究領域において、時代に埋もれていた先人たちの研究成果を再評価する機運が高まってきている。研究代表者は、最近、微生物における新規翻訳品質管理機構(RQC: Ribosome associated Quality Control)を明らかとした。そこで本研究では、過去の知見を生かしながら、その品質管理機構の全貌の理解と、その解析の過程で明らかとなってきた微生物翻訳装置に内在する新規環境応答機構の解明を目指す。枯草菌における新規翻訳品質管理機構 RQC は 1)-3)のステップに分けることができる。1) 主要因子である RqcH が翻訳停滞に伴い解離した 50S サブユニットに結合し、Alanine-tRNA を呼び込むことで非典型的な翻訳伸長を促す。2)その結果、合成途上鎖の C 末端にポリアラニンが付加される。3)これが分解タグとして認識され、ペプチジル tRNA の切断後、翻訳途上の新生ペプチド鎖がプロテアーゼによって分解される。一方で、RqcH の標的となる翻訳停滞産物の実態や 50S サブユニットへの解離機構、ペプチジル tRNA 切断機構など不明な点が多い。そこで初年度となる当該年度では、本研究の最重要課題である、“RqcH による翻訳停滞解消機構の全貌の解明”のうち RqcH の標的となる翻訳停滞途上鎖の同定、終結反応であるペプチジル tRNA 切断機構の解明に注力した。また、レポーターアッセイを用いた細胞内での翻訳エラー率の検出系の確立を目指した。RqcH の標的となる翻訳停滞途上鎖の同定に関しては、当初予定していた抗ポリアラニン抗体を用いた単離解析がうまく行かず、代替案として翻訳停滞途上鎖に作用する Puromycin を用いた単離方法に切り替え、検討を行った。また、50S サブユニットへの解離機構・ペプチジル tRNA 切断機構の解明を目指し、枯草菌の無細胞質翻訳系を用いたアッセイ系を構築し、現在、関連候補因子の検証を行っている。