

論文内容の要旨

博士論文題目 枯草菌の GTP 結合タンパク質の機能解析

ーリボソームの生合成における GTP 結合タンパク質の役割ー

氏 名 松尾 芳隆

(論文内容の要旨)

近年、多くの生物のゲノム配列が明らかになったことで、大腸菌の Era や枯草菌の Obg に代表される GTP 結合タンパク質(Era/Obg スーパーファミリー)が、細菌だけでなく高等真核生物にまで広く保存されていることが明らかになってきた。申請者が所属する研究室では、Era/Obg スーパーファミリーに属するタンパク質が、枯草菌において 10 種類存在し、そのうち 7 種類 (Obg, Era, YsxC, YphC, YlqF, YqeH, YloQ)ものタンパク質が細胞の増殖に必須であることを明らかにしている。また、他の細菌でも、多くの Era/Obg スーパーファミリータンパク質が増殖に必須であることが報告されている。最近、それらがリボゾームの合成あるいはタンパク質合成に関与することを示唆する結果が得られてきているが、それらの細胞内機能は不明のままである。

本研究では、枯草菌の細胞増殖に必須である GTP 結合タンパク質の一つである YlqF が、リボゾームの 50S サブユニットの後期生合成ステップに関与していることを報告する。まず、細胞抽出液をショ糖密度勾配遠心で分画し、YlqF とリボゾーム粒子の結合を解析した結果、YlqF は GTP の非加水分解類似物(GTP γ S)の存在下でのみ、遊離した 50S サブユニットに結合することを明らかにした。次に、YlqF タンパク質を精製し、その GTP 加水分解活性を測定したところ、成熟した 50S サブユニットによって GTP 加水分解能が活性化されることを見出した。これらの結果は、YlqF は 50S サブユニットと結合することを示している。そこで、YlqF の 50S サブユニット上の結合部位を同定することを試み、DMS フットプリント法によって、23S rRNA の Helix 38, 81, 85 に結合することを見出した。また、酵母 2 ハイブリッド法により、YlqF とリボソームタンパク質 L25(Ctc)の相互作用を見いだした。このことは、YlqF が 50S サブユニットの A サイトと P サイトの周辺に結合することを示している。さらに、YlqF を枯渇させた枯草菌細胞内では、YlqF の結合領域に存在するリボソームタンパク質 L16 および L27 を失っている未成熟な 50S サブユニットが蓄積されことを明らかにした。

これらの結果は、YlqF が 50S サブユニットの生合成の過程において、未成熟の 50S サブユニットに取り込まれ、L16 と L27 の取り込みに関与しており、成熟 50S サブユニットの形成に伴い、GTPase 活性が活性化され、遊離することを強く示唆している。本論文は、Era/Obg スーパーファミリータンパク質のリボゾーム合成における、分子機能を明快に示した最初の報告である。

(論文審査結果の要旨)

細菌のゲノム配列決定により、細菌ゲノムにコードされているタンパク質の多様性の解明が進んでいる。その結果、細菌ゲノムにコードされているタンパク質の約 1/3 は、長い遺伝学的・生化学的研究の歴史にもかかわらず、その機能が推定できないものであることが明らかになった。その中でも、細菌の増殖に重要な役割を果たす新規タンパク質の機能解明は、基礎生物学の上で重要であるだけでなく、新たな抗生物質探索のためのターゲットとして、応用研究の上でも関心を集めている。

枯草菌では、系統的な遺伝子破壊実験の結果、単独の破壊が致死となる必須遺伝子が 271 であることが明らかにされている。その内、17 遺伝子の遺伝子産物について、なぜ増殖に必須であるのか現在でも不明である。興味深いことに、そうした機能不明の必須タンパク質には、大腸菌の Era や枯草菌の Obg に代表される GTP 結合タンパク質(Era/Obg スーパーファミリー)が 7 種類も含まれている。また、他の細菌でも、多くの Era/Obg スーパーファミリータンパク質が増殖に必須であることが報告されており、最近、それらがリボゾームの合成あるいはタンパク質合成に関与することを示唆する結果が得られてきているが、それらの細胞内機能の詳細は不明のままである。

申請者は、枯草菌の必須は GTP 結合タンパク質の一つである YlqF について、以下のことを明らかにした。1) YlqF は GTP の非加水分解類似物(GTPγS)の存在下でのみ、遊離した 50S サブユニットに結合する。2) 成熟した 50S サブユニットによって、YlqF の GTP 加水分解能が活性化される。3) 23S rRNA の Helix 38, 81, 85 に結合し、また、リボソームタンパク質 L25(Ctc)と相互作用することから、YlqF は 50S サブユニットの A サイトと P サイトの周辺に結合すると考えられる。4) YlqF を枯渇させた枯草菌細胞内では、YlqF の結合領域に存在するリボソームタンパク質 L16 および L27 を失っている未成熟な 50S サブユニットが蓄積される。これらの結果は、YlqF が未成熟の 50S サブユニットに取り込まれ、L16 と L27 のリボゾームへの組込みに関与しており、成熟 50S サブユニットの形成に伴い、GTPase 活性が活性化され、遊離することを強く示唆している。

このように、本論文は Era/Obg スーパーファミリータンパク質のリボゾーム合成における分子機能を明快に示した最初の報告であり、今後の Era/Obg スーパーファミリータンパク質の研究に大きく貢献するものである。従って、基礎生物学の上で重要な結果を得たのみでなく、新たな抗生物質探索という、実用面でも意義のあるものである。よって、本論文は博士(理学)の学位論文として価値のあるものと認める。