

## 新しいタンパク質翻訳制御機構の提唱

今井淳之介

慶應義塾大学大学院 政策・メディア研究科・先端生命科学プログラム

### 要旨

すべての生物種においてRibosomal RNA (rRNA) はタンパク質生合成に関与する極めて重要な non-coding RNAである。多くの場合、rRNAはrRNA前駆体として転写され、RNA分解酵素 (RNase) による段階的なプロセッシング過程を経て成熟化される。ここで、真核生物ではrRNA前駆体の切断過程において、エンドリボヌクレアーゼであるNob1とその補助因子であるRNA結合タンパク質Dim2/PNO1が18S rRNAの3'末端の成熟化に関与することが知られている。一方、アーキア (古細菌) ではこれらのタンパク質については、分子構造学的な研究にその主眼が注がれており、rRNAの切断過程における作用機序については、ほとんど明らかにされていない。そこで我々は、超好熱性アーキアである*Pyrococcus furiosus*をモデルケースとし、上記因子のアーキアでの相同タンパク質としてPF1205タンパク質 (*Pf-Nob1*) 及びPF1580タンパク質 (*Pf-Dim2*) を情報学的に同定すると共に、精製した組換えタンパク質を用いた*In vitro*プロセッシング系を構築し、そのメカニズムを解析した。まず、精製した*Pf-Nob1*を用いて16S rRNA前駆体領域 (16S rRNA 3'末端領域-ITS領域-tRNA<sup>Ala</sup>を含む) に対する切断解析を行った結果、*Pf-Nob1*は60°Cという高温下にて、同RNA基質の特異的な箇所を切断し、主たる切断箇所は5'RACE法により16S rRNAの3'末端であることが確認された。また、同切断活性は*Pf-Nob1*の活性部位に変異 (*Pf-Nob1* D6N) を入れることで完全に消失した。さらに、一連の変異型RNA基質を用いた解析の結果、*Pf-Nob1*による16S rRNA 3'末端の効率の良い切断には、ヘリックス44 (H44) と呼ばれる16S rRNAの3'末端に存在するRNA 2次構造が必要であることが明らかとなった。一方、*Pf-Dim2*存在下において*Pf-Nob1*の切断活性を解析すると、*Pf-Dim2*の濃度依存的に*Pf-Nob1*の切断部位が変わりうることを見出した。新たな切断部位を5'RACE法で同定したところ、成熟した16S rRNAの3'末端部位の上流にマッピングされ、この切断によりmRNAとの結合に必須なAnti-SD配列が欠落することが明らかとなった。ここで、過剰量の*Pf-Dim2*が存在した場合は、*Pf-Nob1* によるrRNA前駆体の切断が著しく阻害された。以上は、*Pf-Nob1*と*Pf-Dim2*による協調的な制御機構が、rRNA前駆体プロセッシングのみならずタンパク質翻訳の制御にも関与していることを示唆している。

**Keywords: Ribonuclease, RNA Processing, Nob1, Dim2, Archaea, *Pyrococcus furiosus***