

翻訳伸長因子 EF-Tu と tRNA 修飾酵素の相互作用解析系の構築

Construction of interaction analysis system among translational elongation factor EF-Tu and tRNA modification enzymes

○中村仁¹, 堀弘幸^{1,2}

Hitoshi Nakamura¹, Hiroyuki Hori^{1,2}

(¹愛媛大学大学院理工学研究科 物質生命工学専攻,

²愛媛大学ベンチャービジネスラボラトリー)

(¹ Graduate School of Science and Engineering, Department of Materials Science and Biotechnology, Ehime University and ²Venture Business Laboratory, Ehime University)

e-mail: t843023c@mails.cc.ehime-u.ac.jp

原核生物の翻訳伸長因子 EF-Tu は GTP により活性化され、アミノアシル tRNA と結合して、リボソームの A site にアミノアシル tRNA を供給する役割を持つ。細胞内でアミノアシル化された tRNA の内、開始 tRNA を除くほぼ全てのアミノアシル tRNA は EF-Tu と複合体を形成して存在している。この EF-Tu・GTP・アミノアシル tRNA 複合体では、tRNA の CCA 末端に結合したアミノ酸が EF-Tu に覆われ、加水分解によってデアシル化しないように保護されている。また、細胞内に存在する tRNA の修飾頻度は tRNA 分子種や修飾ヌクレオチドの種類や位置によって様々であり、全ての修飾ヌクレオチドは 100%修飾された状態にはない。

そこで、本研究では細胞内で最も一般的な tRNA の存在形態である EF-Tu・GTP・アミノアシル tRNA 複合体中の tRNA が修飾酵素の作用を受けるのかどうかを調べる事にした。

今回我々は、この研究を行なうにあたり、至適生育温度 95°C の超好熱性真正細菌である *Aquifex aeolicus* をモデル生物として用いた。まず、上述のような三者複合体中のアミノアシル tRNA が、メチル化を始めとする種々の修飾を通常通り受けうるかを解析する事を遠望し、EF-Tu の大量発現系を構築した。*Aquifex aeolicus* には、EF-Tu 遺伝子が *tuf A1*、*tuf A2* の二種類存在していたが、*tuf A1* の方を EF-Tu として発現させた。その後、EF-Tu 精製タンパクを得る事に着手し、これに成功した。次に、実際に EF-Tu が加水分解を防いでいるかを、予めアミノアシル化した tRNA と精製した EF-Tu、GTP を用いたプロテクションアッセイで確認した。

また、EF-Tu との相互作用解析の為に、tRNA の 58 番目の A の 1 位をメチル化する酵素である TrmI の大量発現系の構築及びメチル基転移活性の確認を行なった。

今後は、プロテクションアッセイの方法を確立し、TrmI を含む様々な tRNA 修飾酵素と、EF-Tu の相互作用解析を行っていく予定である。