

平成 22 年 5 月 6 日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008～ 2009

課題番号：20770135

研究課題名 (和文) 哺乳類ミトコンドリアにおけるタンパク質合成系の分子機構

研究課題名 (英文) Dissection of mammalian mitochondrial protein synthesis system

研究代表者

富田野乃 (竹内野乃) (TOMITA NONO (TAKEUCHI NONO))

東京大学大学院新領域創成科学研究科・助教

研究者番号：80323450

研究成果の概要 (和文)：

本研究では哺乳類ミトコンドリア (mt) における翻訳系の分子機構を解明することを目指し、申請者自身が構築した生体外 mt 蛋白質合成系を利用し、特に『リボソーム再生機構』を解析した。mt 翻訳終了後リボソーム複合体は RRF1mt と RRF2mt により解離されることを明らかにした。RRF2mt はリボソーム再生過程に特化した新規翻訳因子として発見したため、新しく命名した。また『mt 翻訳因子の病的変異による疾患の発症機構』についても解析を行った。

研究成果の概要 (英文)：

To obtain the detailed insight on the molecular mechanism on mitochondrial translation, we studied the mechanism of ribosome recycling process, utilizing the *in vitro* translation system, reconstituted by ourselves. We discovered the novel translation factor EF-G2mt/RRF2mt which mediates ribosome recycling together with human mitochondrial RRF (RRFmt). We also studied the pathogenic mechanism for the mutation in EF-T2mt and EF-Tsmt.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2009 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・分子生物学

キーワード：翻訳、ミトコンドリア

1. 研究開始当初の背景

近年、ミトコンドリア蛋白質合成系に異常をもたらすミトコンドリア翻訳因子の病的

変異が相次いで同定されている。例えば、哺乳類ミトコンドリアの翻訳因子の変異はミトコンドリア脳筋症、乳児大脳白質萎縮症、

パーキンソン病などの疾患の原因となることが報告されている。また、ある種の抗がん剤や抗生物質が、ミトコンドリアリボソームに作用して誤翻訳や翻訳抑制を誘発して副作用をもたらすことが問題となっている。抗がん剤である oxazolidinone がもたらす骨髄抑制、アミノグリコシド系抗生物質がもたらす難聴などが例である。このように、ミトコンドリアにおける蛋白質合成の分子機構の詳細、ミトコンドリアリボソームの機能構造相関に関する知見を得る重要性が益々高まっている。

2. 研究の目的

以上のような背景をふまえ、申請者は哺乳類ミトコンドリア生体外蛋白質合成系を構築した（平成 17-18 年度、科学研究費補助金若手 B、『ヒト・ミトコンドリア蛋白質合成系の分子機構』。投稿準備中）。本研究では更にこのシステムを発展させ、哺乳類ミトコンドリアにおける蛋白質合成系の分子機構の詳細を解明することを目的とした。具体的には、以下の二つの課題に取り組んだ。

[1] 哺乳類ミトコンドリアにおける翻訳終結機構の解明

[2] ミトコンドリア翻訳伸長因子の病的変異による疾患の発症機構の解明

3. 研究の方法

・生化学的手法

生体外タンパク質合成系を利用した翻訳効率の評価
in vitro リボソーム解離活性の解析、など

・遺伝学的手法

大腸菌 RRF 温度感受性株を利用したリボソーム再生機能の検証

などの手法を組み合わせることにより、EF-G2mt/RRF2mt の機能を解明した。

また、ミトコンドリア翻訳伸長因子の病的変異による疾患の発症機構の解明には、主に哺乳類ミトコンドリア生体外タンパク質合成系を利用した。

4. 研究成果

[1] 哺乳類ミトコンドリアにおける翻訳終結機構の解明

原核細胞の蛋白質合成系において中心的

役割を担っている翻訳因子の多くがリボソーム依存 GTPase である。例えば翻訳開始因子 2 (IF-2)、翻訳伸長因子 Tu (EF-Tu)、翻訳伸長因子 G (EF-G)、翻訳伸長因子 4 (EF-4/LepA)、翻訳終結因子 3 (RF-3)、が挙げられる。中でも EF-G は、伸長過程におけるトランスロケーションと終結過程におけるリボソーム解離、の二つの反応を兼担する因子として知られている。

今回、哺乳類ミトコンドリアにおけるリボソームのリサイクリング機構を調べたところ、トランスロケーション反応とリボソーム解離反応は別々のリボソーム依存 GTPase (EF-G1mt および EF-G2mt) によって分担されていることが明らかとなった。EF-G1mt と EF-G2mt はともに原核細胞 EF-G に対応する分子であると推測されていた。しかし EF-G2mt は、翻訳伸長過程には関与せずリボソーム解離反応のみを担う新規な翻訳因子であることが分かり、その名称を RRF2 (リボソームリサイクリング因子 2) と改めることを提唱した。また EF-G2mt/RRF2mt の作用機構を詳細に調べたところ、原核細胞の EF-G によるリボソーム解離機構とは違い、EF-G2mt/RRF2mt による GTP の加水分解はリボソーム解離反応自体には必要がなく、反応後に EF-G2mt/RRF2mt がリボソームから解離するために必要なことも明らかになった。

EF-G2mt/RRF2mt の発見は、蛋白質合成系における中心的な翻訳因子の役割についての常識を覆すもので、これまでの教科書の記述も修正が必要になる。現在世界で活発に研究が進められている翻訳因子、特にリボソーム依存 GTPase、の作用機序や機能構造の研究に大きな影響を与えるとともに、蛋白質合成系の進化についても新しい視点を提供した。実際、Watanabe Y. 博士らとの共同研究により、系統樹解析からバクテリアにも RRF2 が存在することが示唆され、その生化学的検証を行ったところ、ミトコンドリアに近縁なバクテリアにも RRF2 が存在することが明らかとなった。

[2] ミトコンドリア翻訳伸長因子の病的変異による疾患の発症機構の解明

申請者自身が確立した哺乳類ミトコンドリア生体外タンパク質合成系の基礎的応用として、ミトコンドリア翻訳伸長因子 (EF-Tu_{mt}, EF-Ts_{mt}) の病的変異による疾患の発症機構について調べた。EF-Tu_{mt}R336Q はアミノアシル tRNA との親和性、EF-Ts_{mt}R325W は EF-Tu_{mt} との親和性、がそれぞれ低下しているために、ミトコンドリアにおけるタンパク質合成能が低下していることが明らかとなった。また EF-Tu_{mt} の病的変異体の詳細な解析から、EF-Tu_{mt} はアミノアシル tRNA の 5'

リン酸基を強く認識ことが明らかとなり、原核生物 EF-Tu とは異なるアミノアシル tRNA の認識様式をもつことが分かった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4 件)

1: *竹内野乃、上田卓也

哺乳類ミトコンドリアにおける新規翻訳因子の発見 生化学 (2010) (印刷中) (掲載確定)

2: Kenta Akama, Brooke E. Christian, Christie N. Jones, *Nono Takeuchi, and Linda L. Spemulli

Analysis of the Functional Consequences of Lethal Mutations in Mitochondrial Translational Elongation Factors *BBA* (2010) *in press* (掲載確定), doi:10.1016/j.bbadis.2010.04.003

3: Suematsu T, Yokobori SI, Morita H, Yoshinari S, Ueda T, Kita K, *Takeuchi N, Watanabe YI.

A bacterial elongation factor G homolog exclusively functions in ribosome recycling in the spirochaete *Borrelia burgdorferi* *Mol Microbiol.* (2010) **75**, 1445 - 1454

4: Tsuboi M., Morita H., Nozaki Y., Akama K., Ueda T., Ito K., Nierhaus KH., and *Takeuchi N.

EF-G2mt is an Exclusive Recycling Factor in Mammalian Mitochondrial Protein Synthesis. *Molecular Cell* (2009) **28**, 502-10

[学会発表] (計 7 件)

1: Nono Takeuchi

Dissection of ribosome recycling mechanism in mammalian mitochondrial protein synthesis
Current Issues of Ribosomal Structure and Function, 2010.4.9., Berlin, Germany

2: Hiroyuki Morita, Masafumi Tsuboi, Yusuke Nozaki, Kenta Akama, Takuya Ueda, Koichi Ito, Knud H. Nierhaus, and Nono Takeuchi

EF-G2mt is an Exclusive Recycling Factor in Mammalian Mitochondrial Protein Synthesis
23rd tRNA workshop, 2010.2.1, Aveiro, Portugal

3: 森田寛幸、野崎雄介、壺井将史、上田卓也、○竹内野乃

哺乳類ミトコンドリアにおけるリボソーム再生因子の作用機序
日本ミトコンドリア学会, 2009.12.17, 東京

4: Hiroyuki Morita, Yusuke Nozaki, Masafumi Tsuboi, Takuya Ueda and Nono Takeuchi

Functional Dissection of Ribosome Recycling Factor (RRF) in mammalian mitochondria: Role of the N-terminal domain of mitochondrial RRF in ribosome recycling.
日本分子生物学会, 2009.12.11, 横浜

5: Masafumi Tsuboi, Hiroyuki Morita, Yusuke Nozaki, Kenta Akama, Takuya Ueda, Koichi Ito, Knud H. Nierhaus, and Nono Takeuchi

EF-G2MT IS AN EXCLUSIVE RECYCLING FACTOR IN MAMMALIAN MITOCHONDRIAL PROTEIN SYNTHESIS
EMBO Conference Series on Protein Synthesis and Translational Control, 2009.9.12, Heiderberg, Germany

6: 哺乳類ミトコンドリアにおけるリボソーム再生因子の作用機序 森田寛幸、野崎雄介、壺井将史、上田卓也、○竹内野乃 日本 RNA 学会 2009.7.29 新潟

7: 哺乳類ミトコンドリアにおけるリボソーム再生因子の作用機序 森田寛幸、野崎雄介、壺井将史、上田卓也、○竹内野乃

日本ミトコンドリア学会 2009.12.17 東京

[その他]

ホームページ等

<http://www.k.u-tokyo.ac.jp/news/20090824press.html#top>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

富田野乃 (竹内野乃)

(TOMITA NONO (TAKEUCHI NONO))

東京大学・大学院新領域創成科学研究科・
助教

研究者番号：80323450

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：