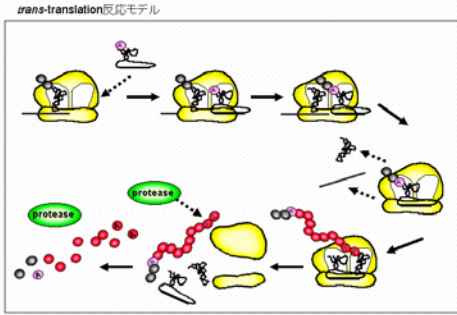


報告年月日	2005 年 2 月 17 日
報告者氏名	氏家 博美
職種 (○で囲む)	研究員 ORA
所属 (RAのみ)	連合農学 研究科 生物資源科学 専攻 (弘前大学配属 16年度入学)
担当 (指導) 教員氏名	武藤 あきら
申請研究テーマ (50字以内)	枯草菌の tmRNA による trans-translation 反応の温度依存性
採用によって得られた成果	<p>研究背景</p> <p>tmRNA は真正細菌に広く存在する RNA で、自身の持つ tRNA と mRNA の機能により <i>trans-translation</i> 反応と呼ばれる特殊な翻訳機構に関与する。この反応は、壊れた mRNA 上で翻訳を中断したリボソームの翻訳を再開し、tmRNA がコードするタグペプチドを翻訳付加することで不完全ペプチドを速やかに分解へと導くことから、(1) 翻訳の効率化と (2) 細胞内タンパク質の品質管理に働くと考えられてきた。しかし近年、この二つの一般的機能だけでなく、<i>trans-translation</i> 反応の特定の生命現象への関与が示唆されており、この反応のもつ生理的機能が注目されている。</p>  <p>目的</p> <p>これまでの研究により、枯草菌の tmRNA 合成は温度に感受性で高温下で上昇すること、高温環境下での増殖に tmRNA が必須であることを明らかにした。加えて、高温下では tmRNA の増加に伴って <i>trans-translation</i> 反応が上昇することも示され、温度特異的にこの反応を受ける標的タンパク質の存在が示唆された。本研究は、<i>trans-translation</i> 反応産物を検出する系を用いてこれら標的タンパク質を分離・同定・解析することで、<i>trans-translation</i> 反応の生理的意義を解明すること、バクテリアのストレス環境への適応機構を明らかにすることを目的とする。</p> <p>研究方法</p> <p>高温下で特異的に <i>trans-translation</i> 反応を受ける PerR について以下の検証を行う。(1) 反応産物を単離しマスペクトルで解析することで、PerR のどの位置でタグペプチドが付加されているのかを明らかにする。この結果から、なぜその位置で <i>trans-translation</i> 反応が起きるかを推定する。(2) 様々なストレス条件下での反応産物の消長を、PerR に対する抗体を用いた Western blotting で検出・解析する。また、網羅的に標的タンパク質の単離・同定を行うことで、新規同定した反応産物についても併せて同様の解析を行う。</p>
具体的に記すこと。 (今年度の申請をふまえて、何が解決され、何が問題として残ったか、予想していなかった結果など)	
各項目の長さを適宜調整し、全体で2ページに収まるように記すこと。	
図表を入れても構わない。	

成果と考察

高温特異的に *trans*-translation 反応を受けるタンパク質である PerR は、酸化・高温等のストレス下で発現する遺伝子群 (PerR レギュロン) のリプレッサータンパク質である。PerR は全長 16.3kDa のタンパク質であるが、*trans*-translation 反応産物 PerR の分子量は 13~14kDa となる。従って PerR は終止コドンより上流の mRNA 領域翻訳中に、何らかの原因によりタグペプチドを付加されていることになるが、ゲノム DNA 及び転写された mRNA 上にタンパク質翻訳が中断するような配列等は見つかっていない。条件検討が難航していたマスマスペクトル解析用の反応産物 PerR の単離・精製方法が確立したため、量的及び質的に十分なタンパク質を精製でき次第、タグペプチドの正確な位置を特定する。

一方、高温特異的な標的タンパク質以外にも網羅的に *trans*-translation 反応産物を解析するため、N 末端アミノ酸配列により新規反応産物の同定を試みた。その結果、通常培養温度において PpiB と SCP1 という二種類の低温ストレス応答のタンパク質が *trans*-translation 反応を受けることが明らかになった。PpiB は細胞内でタンパク質の folding を担う peptidyl-prolyl cis-trans isomerase であり、低温ストレス及び高温ストレスにより細胞内で発現量が上昇することが報告されているタンパク質である。またもう一方の、SCP1 は機能未知のタンパク質であるが、低温ストレス及び塩濃度ストレスによりその発現量が増加することが知られている。これらの温度ストレス応答タンパク質が通常培養温度において *trans*-translation 反応を受けているという事実は、細胞内の PpiB 及び SCP1 濃度が *trans*-translation 反応を介したタンパク質分解によっても調節されている可能性を示唆するものである。高温特異的な反応産物と併せてこれらの *trans*-translation 反応産物を解析することにより、高温・低温の両温度ストレス応答への *trans*-translation 反応の関与を明らかにできるものと期待される。

発表論文など

Participation of 3'-to-5' Exoribonucleases in the Turnover of *Bacillus subtilis* Messenger RNA

Irina A.Oussenko, Teppei Abe, Hiromi Ujiie, Akira Muto, and David H. Bechhofer

Journal of Bacteriology, 187:2758-2767 (2005)

学会発表など

枯草菌における tmRNA による *trans*-translation のカタボライト抑制への関与

氏家博美、松谷誠子、松原美佳、戸松恒、藤原愛、姫野俵太、武藤あきら
第 27 回 日本分子生物学会

2004 年 12 月 8 日~11 日 神戸ポートアイランド

枯草菌における *trans*-translation は polynucleotide phosphorylase の非存在下で増大する

阿部鉄平、氏家博美、姫野俵太、武藤あきら、Irina Oussenko、David Bechhofer

第 27 回 日本分子生物学会

2004 年 12 月 8 日~11 日 神戸ポートアイランド