

平成 16 年 3 月 15 日

氏名 佐藤 文 印

21世紀COEプログラム

拠点：大学院工学系研究科
応用化学専攻、化学システム工学専攻、
化学生命工学専攻、マテリアル工学専攻

“化学を基盤とするヒューマンマテリアル創成”

平成15年度リサーチ・アシスタント報告書

ふりがな 氏名	さとう あや 佐藤 文	生 年 月 日
所属機関名	東京大学大学院工学系研究科化学生命工学専攻小宮山研究室	
所在地	東京都文京区本郷7-3-1	
申請時点での 学 年	博士課程一年	
研究題目	セリン特異的な Elongation Factor Tu(EF-Tu)の解析	
指導教官の所属・氏名	東京大学大学院工学系研究科化学生命工学専攻 小宮山 真	

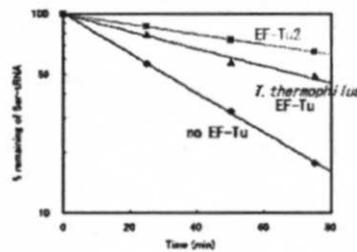
I 研究の成果 (1000字程度)

(図表も含めて分かりやすく記入のこと)

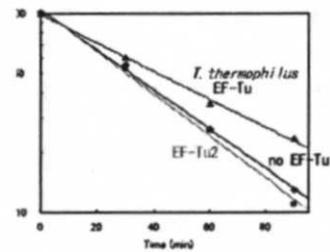
線形動物ミトコンドリアでは、通常のクローバーリーフ型とは異なった、T arm が欠けた tRNA と D arm が欠けた tRNA という異常な形をした 2 種類の tRNA が存在することが知られている。これらの tRNA に結合する EF-Tu として、通常の翻訳系では EF-Tu は 1 種類であるのに対し、2 種類の異常な tRNA それぞれに結合する 2 種類の EF-Tu が見つかった。このうち、D arm の欠けた tRNA に結合する EF-Tu(EF-Tu₂)は、一般的な EF-Tu と比較したときにアミノアシル tRNA のアミノ酸部分との結合に関わるアミノ酸残基の保存性がほとんどないことから、アミノ酸認識様式が通常のものとは異なることが予想された。さらに、EF-Tu₂ が結合する D arm の欠けた tRNA は、セリン tRNA のみであることから、我々は、EF-Tu₂ はセリン tRNA のセリン部分を特異的に認識する新しいタイプの EF-Tu であると予想した。

本研究ではこれを証明するために二つの実験を行った。加水分解プロテクションアッセイでは、2 種類のアミノ酸 (セリン、アラニン) をチャージ出来るような *Ascaris suum* ミ

トコンドリア tRNA^{Ser}UCU 変異体を作成し、Ser-tRNA^{Ser}UCU と Ala-tRNA^{Ser}UCU に対する EF-Tu₂ の結合活性を比較したところ、EF-Tu₂ は Ser-tRNA とは結合したが、Ala-tRNA とは結合しなかった。



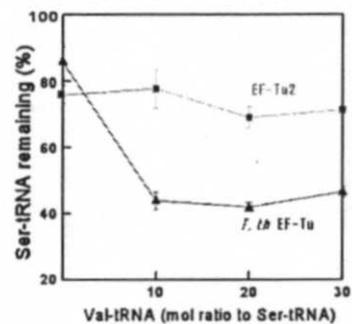
(a) Ser-tRNA



(b) Ala-tRNA

コンペティションアッセイでは、Ser-tRNA^{Ser}UCU と化学合成法で調製した Val-tRNA^{Ser}UCU との EF-Tu₂ の結合に関して競争実験を行った。この結果、Ser-tRNA に対する EF-Tu₂ の結合は過剰量の Val-tRNA によってもまったく影響を受けなかった。これらの実験から EF-Tu₂ がセリン特異的であることが証明された。

現在、一般的な EF-Tu においてアミノアシル tRNA のアミノ酸との結合に関わる残基を EF-Tu₂ の対応する部分と組み換えた変異体を作成し、アミノ酸置換によってセリン特異性を一般的な EF-Tu に移せるかどうか検証中である。線形動物ミトコンドリア EF-Tu₂ は不安定なタンパクであるため結晶化は難しいと考えられるが、他生物の安定な EF-Tu にセリン特異性を移せた場合、結晶構造解析が可能となると予想できるので、線形動物ミトコンドリア EF-Tu₂ がセリン tRNA のセリン部分をどのように認識しているか分子構造レベルでの解明も期待できる。



II (1) 学術雑誌等に発表した論文A (掲載を決定されたものを含む.)

共著の場合、申請者の役割を記載すること。

(著者、題名、掲載誌名、年月、巻号、頁を記入)

① Takashi Ohtsuki, Aya Sato, Yoh-ichi Watanabe and Kimitsuna Watanabe

A unique serine-specific elongation factor Tu found in nematode mitochondria

Nature Structural Biology (2002) 9, 669-673

② Takashi Ohtsuki, Masayuki Sakurai, Aya Sato and Kimitsuna Watanabe

Characterization of the interaction between the nucleotide exchange factor

EF-Ts from nematode mitochondria and elongation factor Tu

Nucleic Acids Research (2002) 30, 5444-5451

氏 名 佐藤 文

II (2) 学会において申請者が口頭発表もしくはポスター発表した論文

(共同研究者 (全員の氏名)、題名、発表した学会名、場所、年月を記載)

- Aya Sato, Takashi Ohtsuki, Yoh-ichi Watanabe and Kimitsuna Watanabe

"A unique serine-specific elongation factor Tu found in nematode mitochondria"

20th International tRNA Workshop ドイツ 2003年10月

- 佐藤文、大槻高史、渡辺洋一、渡辺公綱

セリル tRNA のみを認識する伸長因子 EF-Tu

(Unique serine-specificity of mitochondrial EF-Tu)

第26回日本分子生物学会 神戸 2003年12月