

原核，真核生物翻訳系における蛋白質フォールディングの比較



研究ノート

平野展孝*

Comparison of Protein Folding in Prokaryotic and Eukaryotic Translation Systems

Key Words : Cell-Free Protein Synthesis, Co-Translational Folding, Multi-Domain Protein

1. はじめに

蛋白質は，ポリペプチド鎖が高次構造を形成（フォールディング）することによって機能を発揮する．細胞内における蛋白質のフォールディングは，リボソームによるポリペプチド鎖の伸長反応と同時に開始される．この蛋白質合成（翻訳）に共なったフォールディングは，複数の構造単位（ドメイン）からなるマルチドメイン蛋白質のフォールディングにおいて，N末ドメインからの段階的なフォールディングを可能とし，ドメイン間のミスフォールディングを避ける上で特に重要である（図1）．本稿では，原核生物と真核生物翻訳系における翻訳に共なったフォールディングの比較研究と，当該分野における現在までの議論について紹介する．

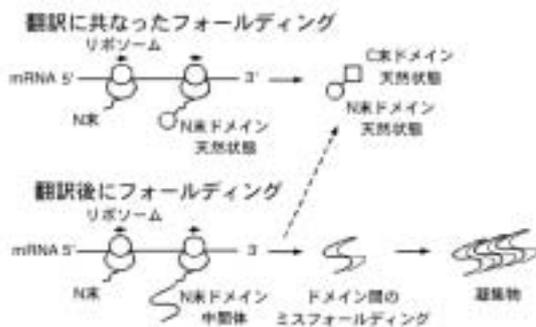


図1．翻訳時におけるマルチドメイン蛋白質のフォールディング

2. 原核-真核生物翻訳系間のフォールディング能の違い

生物は大きく三つの生物界に分類されるが，高等生物を含む真核生物は，原核生物や古細菌よりも，ゲノム上の総蛋白質数に対する400アミノ酸残基以上の蛋白質の割合が多いことが知られている．生物界に関わらず，ドメインの平均サイズは100-300アミノ酸残基なので，真核生物ゲノムでは，マルチドメイン蛋白質の割合が原核生物ゲノムよりも多いと考えられる．

マルチドメイン蛋白質が，その進化過程において，複雑なドメイン構成を獲得するためには，ドメインをコードする遺伝子レベルのランダムな組み換えが生じた際に，それを正しくフォールドさせる翻訳系の能力が必要であったと予想される．このことから，1997年にHartlのグループによって，複雑なドメイン構成のマルチドメイン蛋白質が多い真核生物の翻訳系の方が，原核生物の翻訳系よりも，翻訳に共なったフォールディングに優れているという仮説が提唱された¹⁾．しかし，翻訳に共なったフォールディングは，原核および真核生物翻訳系における種々の蛋白質合成において確認されていたため，この仮説に対する議論が巻き起こった^{2, 3)}．

3. 翻訳時のフォールディングの比較

原核 - 真核生物翻訳系間の翻訳に共なったフォールディング能の違いについて一般的な傾向を得るためには，多検体のマルチドメイン蛋白質について比較する必要があると考えられた．そこで筆者は，両翻訳系で合成した際にフォールディング効率に差の無い蛋白質から融合蛋白質を構築した場合，翻訳



* Nobutaka HIRANO

1973年11月生

大阪大学大学院工学研究科物質・生命工学専攻博士後期課程修了（2001年）

現在，大阪大学大学院，工学研究科生命先端工学専攻物質生命工学コース極限生命工学講座，特任助教，博士（工学），蛋白質工学／無細胞蛋白質合成

TEL：06-6879-4580

FAX：06-6879-4580

E-mail：nhirano@mls.eng.osaka-u.ac.jp

に共なってN末ドメインから段階的にフォールディングしていれば正しくフォールドし、そうでなければドメイン間のミスフォールディングを起こしやすく凝集体を形成する可能性が高いと仮定した(図1)。この仮定に基づき、多検体蛋白質合成が可能な大腸菌および小麦胚芽無細胞翻訳系で合成した際にフォールディング効率に差の無い6種類のモデル蛋白質(クラゲ緑色蛍光蛋白質(GFP) 27 KDa:可溶性, ヒト型炭酸脱水素酵素(hCAII) 29 KDa:可溶性, ヒトロダナーゼ(hRHO) 33 KDa:不溶性, ヒトジヒドロ葉酸還元酵素(hDHFR) 22 KDa:不溶性, 大腸菌ジヒドロ葉酸還元酵素(eDHFR) 18 KDa:可溶性, 大腸菌トリプトファン合成酵素サブユニット(eTRPA) 28 KDa:可溶性)(図2)を2個或いは3個連結して計180種類

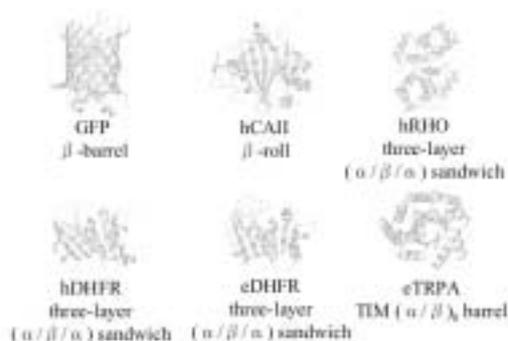


図2. モデル蛋白質の立体構造

の融合蛋白質ライブラリーを構築し、各無細胞翻訳系で合成した際のドメインの溶解性と酵素活性を比較した。

その結果、小麦胚芽無細胞翻訳系で融合蛋白質を合成した場合、正しくフォールドしていない不溶性ドメイン(hRHO, hDHFR)の隣でも、主にシートから形成される可溶性ドメイン(GFP, hCAII)が正しくフォールドしやすい傾向にあり、この傾向は、大腸菌無細胞翻訳系で合成した場合には現れなかった⁴⁾。また、これと前後して、大腸菌と酵母の細胞内においてGFP融合蛋白質を発現させた場合、酵母の方がGFPドメインのフォールディングに優れている結果が報告された⁵⁾。これらの結果は、無細胞翻訳系に限らず、細胞内においても、原核-真核生物翻訳系間でシート蛋白質の翻訳時におけるフォールディング効率に違いのあることを示唆している。

一般に、シート含量の高い蛋白質は、ヘリックス含量の高い蛋白質に比べて、試験管内での巻き戻り速度が遅い傾向にある⁶⁾。これは、ヘリックスが二次構造内の相互作用によって形成されるのに対し、シートが二次構造間の相互作用によって形成されていることに起因する。翻訳時においては、相互作用の相手であるポリペプチド領域が合成されるまでシート構造を形成出来ないことから、シート蛋白質のフォールディングは、試験管内での巻き戻りよりも更に不利になると考えられる。

4. 翻訳時のフォールディングに違いをもたらす理由について

原核-真核生物翻訳系間で翻訳に共なったフォールディングに違いが生じる理由としては、リボソームのペプチド伸長速度の違い、新生ペプチド鎖のフォールディングを助けるシャペロン機構の違い、などが上げられる。

一般に、細胞内におけるリボソームのペプチド伸長速度は、原核生物が毎秒10-20アミノ酸残基であるのに対し、真核生物は毎秒2-3アミノ酸残基と大きな差がある。真核生物翻訳系の遅いペプチド伸長速度は、C末ドメインが合成される前に、N末ドメインがフォールドする時間的猶予を与えるため、ドメインの翻訳に共なったフォールディングに寄与すると考えられる。しかし、大腸菌と小麦胚芽無細胞翻訳系のペプチド伸長速度は、両翻訳系共に毎秒1.5-1.8アミノ酸残基であり⁴⁾、伸長速度の違いのみではフォールディング効率の違いを説明出来ない。

原核-真核生物翻訳系間のシャペロン機構の違いとして、真核生物のシャペロン機構が、原核生物の機構と比較して、高度なネットワークを形成していることが上げられる⁷⁾。実際、新生蛋白質のフォールディング中間体は、真核生物細胞内では細胞質中に放出されないのに対し、原核生物細胞内では細胞質中に放出されやすい傾向にある。このことは、真核生物翻訳系においては、新生ポリペプチド鎖のフォールディング過程で働くシャペロンの間で、フォールディング中間体が細胞質中に放出されることなく、効率良く受け渡されていることを示唆する。

5. おわりに

原核-真核生物翻訳系間の翻訳に共なったフォールディング能の違いに関しては、現在も議論が分かれており、翻訳時のフォールディング研究においてよく用いられるホタル蛍光蛋白質(ルシフェラーゼ)を対象にした研究でも、異なる結論が導かれている^{8,9)}。同一蛋白質を対象にしても異なった結論が導かれる理由として、酵素活性を指標としたフォールディングの検出系しか存在していないことが上げられる。翻訳時におけるフォールディングの構造変化を、リアルタイムに検出出来る実験系の構築が、今後の課題と思われる。

参考文献

- 1) Netzer, W.J., and Hartl, F.U. (1997) Nature 388: 343-349.
- 2) Nicola, A.V., Chen, W., and Helenius, A. (1999) Nat Cell Biol 1: 341-345.
- 3) Kolb, V.A., Makeyev, E.V., and Spirin, A.S. (2000) J Biol Chem 275: 16597-16601.
- 4) Hirano, N., Sawasaki, T., Tozawa, Y., Endo, Y., and Takai, K. (2006) Proteins 64: 343-354.
- 5) Chang, H.C., Kaiser, C.M., Hartl, F.U., and Barral, J.M. (2005) J Mol Biol 353: 397-409.
- 6) Debe, D.A., and Goddard, W.A. (1999) J Mol Biol 294: 619-25.
- 7) Frydman, J. (2001) Annu Rev Biochem 70: 603-647.
- 8) Agashe, V.R., Guha, S., Chang, H.C., Genevoux, P., Hayer-Hartl, M., Stemp, M., Georgopoulos, C., Hartl, F.U., and Barral, J.M. (2004) Cell 117: 199-209.
- 9) Svetlov, M.S., Kommer, A., Kolb, V.A., and Spirin, A.S. (2006) Protein Sci 15: 242-247.

