2SB3

翻訳反応のGTPaseセンターに位置するリボソームタンパク質とrRNAドメイン

○内海 利男、本間 佐知子、野村 隆臣、八森 章（信州大・繊維・高分子研）

翻訳反応は、リボソーム上でtRNAとmRNAの対合ベアが移動する大規模な反応である。この動的反応には、各種GTP結合性翻訳因子のリボソームへの作用とそれに伴うGTP加水分解が必要である。大腸菌リボソーム大亜粒子の一つの突起(Stalk)構造を形成するタンパク質複合体(L10.(L12)₄)は、これら翻訳因子の共通の作用部位となり、GTP水解とそれに伴う動的反応に不可欠なタンパク質である。一方、23S rRNAの二つのドメイン、抗生物質チオストレプトン結合部位およびペロ毒素作用部位(SRL)もGTP結合性翻訳因子に依存した反応に関与することが示され、機能面でStalkタンパク質複合体と関連している。我々は大腸菌リボソームからL10.(L12)₄を特異的に遊離させ、動物細胞の相同体を結合させるハイブリッドの系を用い、このタンパク質とrRNA間の相互作用と機能誘発との関係を解析してきた。このタンパク質の入れ換えにより、リボソームは大腸菌の翻訳因子は受容せず、動物の因子を受容した。また、この動物Stalkタンパク質複合体の大腸菌リボソームへの結合により、rRNAの二つの機能部位構造に影響を与えることが示された。すなわち、タンパク質のチオストレプトン結合部位周辺への結合により、動物の同rRNAドメインに特異的な抗RNA自己抗体との結合性が生じ、また、動物リボソームのSRLに作用する植物毒素の受容性も生じ、2660部位のアデニン塩基が遊離した。以上の知見より、Stalkタンパク質複合体は翻訳因子との直接的相互作用とGTP水解に寄与するばかりでなく、隣接する二つのrRNA機能ドメインの機能構造形成に関わることが示された。おそらく、このタンパク質複合体は二つのrRNAドメインと共に、GTP水解とそれに伴うリボソームの動的反応の機能中心を形成していると思われる。

T. Uchiyumi, S. Honma, T. Nomura and A. Hachimori : Ribosomal Proteins and rRNA domains in the translational GTPase center

2SB5

The complete atomic structure of the large ribosomal subunit from *Haloarcula marismortui*.

Nissen P.¹, Ban N.¹, Hansen J.¹, ○ Moore P.B.^{1,2}, Steitz T.A.^{1,2,3} (¹Dept. of Molecular Biophysics and Biochemistry, Yale Univ., ²Dept. of Chemistry, Yale Univ., ³Howard Hughes Medical Institute)

An atomic resolution model of the large ribosomal subunit from *H. marismortui* has been constructed using a 2.4 Å resolution electron density map of the subunit obtained by X-ray crystallography. This model shows the positions of all but ~200 of the ~3,000 nucleotides of the subunit's 23S and 5S rRNAs, and describes the structures and placements of free of its 31 proteins. The model has been partially refined, and its free R-factor is now 0.27. The site to which the substrate analogue CCdA-puromycin binds to the large ribosomal subunit has been determined by difference Fourier techniques, and it is now clear that the ribosome is a ribozyme; the protein nearest to the analogue is about 20 Å from it. The implications of this structure for our understanding of nucleoproteins structure and the mechanism of protein will be discussed.

Nissen, P., Ban, N., Hansen, J., Moore, P.B., and Steitz, T. A. : The complete atomic structure of the large ribosomal subunit from *Haloarcula marismortui*.

2SB4

超高熱菌の70Sリボソームの結晶化

田中 秀明¹, 山下 栄樹¹, 鍾 坤池¹, 松垣 直宏¹, 中石 雄一郎¹, 道之前 允直², 瓜谷 真祐³, 山本 雅貴⁴, 石野 良純⁵, 中川 敦史¹, ○月原 富武¹ (¹阪大蛋白質研, ²甲南大理, ³静岡大理, ⁴理研播磨, ⁵生物分子工研)

リボソームはメッセンジャーRNAに転写された遺伝情報に従って蛋白質を合成する超分子複合体である。リボソームによる蛋白質合成は人工の化学合成に比べて遙かに高速で正確に行われている。構造研究が各地で行われており、すでに高熱菌の70S-tRNA等複合体は7.8Å分解能、高熱菌の50Sサブユニットと30Sサブユニットは5Å分解能で構造解析されている。この蛋白質合成のメカニズムを解明するためには、さらに高分解能の構造解析が必要である。そのために我々は、細菌の超高熱菌に変えて70Sリボソームの結晶化を行った。70Sリボソームの精製は主として超遠心分離法を用いて行った。精製標品の活性はポリフェニルアラニン合成によって確認した。2次元電気泳動で65サブユニットのスポットを同定することができた。粒子を電子顕微鏡で観察したところ均一な単量体の70Sを確認できた。70Sリボソーム溶液を数分間60℃にしたあと、ハンギングドロップ蒸気拡散法によって結晶化した。沈殿剤としてMPD、PEG-1000、PEG4000を使用したときに良質の結晶を再現性良く得ることができた。それぞれの場合に格子定数及び空間群はa=b=633.7 Å, c=352.5 Å, P41212またはP43212, a=b=621.9 Å, c=346.0 Å, P41212またはP43212, a=343.0 Å, b=341.1 Å, c=341.5 Å, $\alpha=117.1^\circ$, $\beta=91.3^\circ$, $\gamma=120.0^\circ$, P1であった。P1の結晶は疑似の面心立方格子にもなったが回折強度分布の対称性は立方格子を満足しなかった。それぞれ良質の回折像を与えたが、MPDで結晶化した正方晶の結晶の回折強度データをSPRing-8の生体超分子構造解析ビームライン(BL44-XU)で収集しているところである。

H. Tanaka, E. Yamashita, K. T. Chong, N. Matsugaki, Y. Nakaishi, M. Michinomae, M. Uritani, M. Yamamoto, Y. Ishino, A. Nakagawa and T. Tsukihara : Crystallization of 70 S ribosome from the hyperthermophilic bacterium, Pyrococcus furiosus

2SC1

ヒトゲノム計画：幼年期の終わり

○中井 謙太¹, 矢田 哲士² (¹東大・医科研・HGC, ²理研・GSC)

ヒトゲノム計画がスタートして約10年が過ぎた。日本において、今年度は第II期の終わりであると同時に、新たに第III期計画が始まった年でもある。ここではゲノム情報科学の立場から、三つの素朴な疑問を通して、これまでのゲノム計画を振り返ってみたい。

1. どのような方法で配列決定したか？

理研グループをはじめとする「世界標準」では、ゲノム配列を150kb程度に断片化したものを多数作成し、染色体上の大体の位置がわかっている断片に重なる断片を順に探すことで、染色体を覆い尽くす戦略をとった。得られた断片集合をさらに分断し、低精度で配列決定したものはドラフトと呼ばれ、このレベルのヒトゲノム配列データはすでに完成している。一方、セセラ社では、最初の断片選択のステップを省略して、一気に細かく断片化して配列決定し、コンピュータで結合させている。つまり情報科学がセセラ社の野心的な戦略を支えている。

2. 得られた塩基配列からどうやって遺伝子を探すのか？

実験的には転写産物を配列決定することで、よく転写されているものは確認できる。コンピュータによる遺伝子発見は、細菌遺伝子については比較的正確に行えるようになったが、ヒトをはじめとする真核生物遺伝子については、まだまだ改良の余地があり、全ゲノム配列が決まったとしても、その遺伝子総数の概数さえはつきりしないのが現状である。

3. 生物学は変わったのか、これからどう変わっていくのか？

日本でゲノム関係のグラントを受けている研究者は、共同研究者までも含めると1000人を超える規模となっており、その中には伝統的な生物学者や生物物理学者が多数含まれている。このことに象徴されるように、生物学のゲノム科学化は確実に進行している。

K. Nakai and T. Yada : The Human Genome Project: Childhood's End