

2つの tRNA/mRNA ハイブリッドによるトランストランスレーション

姫野俵太

弘前大学 農学生命科学部 分子生命科学科

〒036-8561 青森県弘前市文京町3

E-mail: himeno@cc.hirosaki-u.ac.jp

tmRNA は機能分子 tRNA と情報分子 mRNA のハイブリッドである。tRNA と同じように、3' 末端にアラニンを結合するが [1]、アンチコドンはないので情報を読みとることはできない。タグペプチドと呼ばれる 10 残基程度のペプチドをコードしているが、通常の（開始コドンから始まる）翻訳はされない。そして、2つの機能は連携してトランストランスレーション、すなわち mRNA 上でストップしている翻訳を tmRNA が引き継ぐ形でトランスに翻訳が行われ、その結果 2 本の RNA から 1 本のキメラペプチドの合成が行われる [2-5]。キメラペプチドの C 末端のタグペプチドはプロテアーゼのシグナルとなっており、トランストランスレーションにより作られたキメラペプチドは細胞内で優先的に分解を受ける。それまでタンパク質合成が停滞する状況は想定されていなかっただけに、トランストランスレーションの発見は「翻訳停滞解消機構」という新たな命題を提起することとなった [5-7]。その後の研究により、トランストランスレーションは翻訳停滞解消機構を基礎として、ストレス応答 [8,9] や細胞分化 [10] をはじめとした細胞内における様々な生理機能に深く関わっていることが明らかになってきており、新しいタイプの遺伝子発現調節機構を担っているとも考えられるようになってきた [11]。

250-400 ヌクレオチドからなる tmRNA の両末端付近の二次構造は、tRNA のクローバーリーフ構造の上半分とそっくりであり、しかもそこには 3' 末端の CCA 配列などの tRNA に保存されている配列や修飾塩基が存在する [1,12]。この構造に挟まれた中央部分には、4 個のシュードノット構造に囲まれるようにタグペプチドのコード領域が位置する [13-16]。tRNA の上半分を擬態している構造は、RNase P によるプロセッシング、AlaRS の認識、EF-Tu の結合、そしてリボソームへの結合にとって重要なものとなっている [1,17]。なお、キメラペプチドの最初の Ala 残基は、mRNA にも tmRNA にもコードされておらず、tmRNA にアミノアシル化していた Ala に由来する [18]。

リボソームへの tmRNA の結合にとってもう一つ重要な因子は、tmRNA 特異的結合タンパク質 SmpB である。翻訳がストップしているリボソームには、tmRNA は SmpB・EF-Tu・GTP と複合体を組んで入り込む [19,20]。SmpB は N 末端側の球状ドメインと C 末端側の unstructured なペイロードからなる。球状ドメインが tRNA の下半分と構造が似ていることは以前から指摘されていたが、Directed hydroxyl radical probing の結果、A サイトの下半分および P サイトの下半分の合計 2 カ所に、tRNA が結合するときと同じような形で SmpB が結合する部位があることが明らかになった [21]。そして unstructured な C 末端ペイロードは、リボソーム上の mRNA パスに沿って、A サイトの SmpB においては下流方向に extend した

状態で、P サイトの SmpB においては fold した状態で位置していることが明らかになってきた。

以上の実験結果をふまえ、SmpB は tRNA の下半分と mRNA を擬態することでトランストランスレーションを行うというモデルを提唱した [21,22]。トランストランスレーションのさいには SmpB は tmRNA と合体しているので、併せて tRNA 全体と mRNA を擬態するということになる。A サイト下流で C 末端ペイロードが extend していることにより、tmRNA・SmpB が A サイト附近で mRNA が切断されることにより翻訳がストップしているリボソームを優先的に認識することが可能になる [23,24]。一方、P サイトにおいて SmpB の C 末端ペイロードが fold していることは、トランスロケーション後に A サイトを空にすることにより tmRNA を mRNA として翻訳が再開できるようにするために必要である。このとき、tmRNA 上の再開位置が決まるのであるが、その決定には、SmpB とリボソームの相互作用を基礎として、そこに tmRNA が関わるメカニズムが示唆されている [25-28]。なお、tRNA と同じように A/T→A→P→E とリボソーム上を移動することが想定される点において、SmpB はこれまでに提唱してきた擬態タンパク質とは一線を画す。

tmRNA と SmpB はすべての細菌にセットで存在することから、トランストランスレーションシステムは細菌進化のごく初期には存在していたものと考えられる。tmRNA が tRNA 遺伝子の中央に何かが入り込むことにより生じたであろうことは容易に想像できる。そして、過度にアミノアシルアセプターステムに偏った AlaRS の認識から考えて、入り込む先の tRNA 遺伝子として tRNA^{Ala} 遺伝子が最も相応しかったことも納得できる。tmRNA を認識しなければならないという責任を背負ってしまったが為に AlaRS はアンチコドンを認識しないように進化せざるを得なかった、というストーリーもまた大いにありそうに思える [18]。いずれにしても、4 個のシュードノットとタグペプチドコード領域を含む tmRNA の中央部分の構造については、他に類似のものは報告されておらず、その由来を想像することはできない。また、SmpB に類似の配列を持ったタンパク質の報告はなく、その由来もまた謎である。翻訳システムがまだ未熟であった生物進化の初期の頃、はたして tmRNA のようなハイブリッド分子が今以上に跋扈していた世界は存在したのであろうか？

引用文献

1. Ushida, C., Himeno, H., Watanabe, T. and Muto, A. tRNA-like structures in 10Sa RNAs of *Mycoplasma capricolum* and *Bacillus subtilis*, Nucleic Acids Res. 22, 3392-3396 (1994).
2. Tadaki, T., Fukushima, M., Ushida, C., Himeno, H. and Muto, A. Interaction of 10Sa RNA with ribosomes in *Escherichia coli*, FEBS Lett. 399, 223-226 (1996).
3. Muto, A., Sato, M., Tadaki, T., Fukushima, M., Ushida, C.

- and Himeno, H. Structure and function of bacterial 10Sa RNA: *trans*-translation system, *Biochimie* 78, 985-991 (1996).
4. Himeno, H., Sato, M., Tadaki, T., Fukushima, M., Ushida, C. and Muto, A. *In vitro trans* translation mediated by alanine-charged 10Sa RNA, *J. Mol. Biol.* 268, 803-808 (1997).
 5. Muto, A., Ushida, C. and Himeno, H. A bacterial RNA that functions as both a tRNA and an mRNA, *Trends Biochem. Sci.* 23, 25-29 (1998).
 6. Himeno, H. Novel factor rescues ribosomes trapped on non-stop mRNAs, *Mol. Microbiol.* 78, 789-791 (2010).
 7. Himeno, H., Kurita, D. and Muto, A. *Trans*-translation by tmRNA and SmpB: a bacterial quality control system of translation, *Advances in Genetics Research* 6, 161-203 (2011).
 8. Muto, A., Fujihara, A., Ito, K., Matsuno, J., Ushida C. and Himeno, H. Requirement of transfer-messenger RNA (tmRNA) for the growth of *Bacillus subtilis* under stresses, *Genes Cells* 5, 627-636 (2000).
 9. Fujihara, A., Tomatsu, H., Inagaki, S., Tadaki, T., Ushida, C., Himeno, H. and Muto, A. Detection of tmRNA-mediated *trans*-translation products in *Bacillus subtilis*, *Genes Cells* 7, 343-350 (2002).
 10. Abe, T., Sakaki, K., Fujihara, A., Ujiie, H., Ushida, C., Himeno, H., Sato, T. and Muto, A. tmRNA-dependent *trans*-translation is required for sporulation in *Bacillus subtilis*, *Mol. Microbiol.* 69, 1491-1498 (2008).
 11. Ujiie, H., Matsutani, T., Tomatsu, H., Fujihara, A., Ushida, C., Miwa, Y., Fujita, Y., Himeno, H. and Muto, A. *Trans*-translation is involved in the CcpA-dependent tagging and degradation of TreP in *Bacillus subtilis*, *J. Biochem.* 145, 59-66 (2009).
 12. Felden, B., Hanawa, K., Atkins, J.F., Himeno, H., Muto, A., Gesteland, R.F., McCloskey, J.A. and Crain, P.F. Presence and location of modified nucleotides in *E. coli* tmRNA. Structural mimicry with tRNA acceptor branches, *EMBO J.* 17, 3188-3196 (1998).
 13. Felden, B., Himeno, H., Muto, A., McCutcheon, J., Atkins, J.F. and Gesteland, R.F. Probing the structure of the *E. coli* 10Sa RNA (tmRNA), *RNA* 3, 89-103 (1997).
 14. Nameki, N., Felden, B., Atkins, J.F., Gesteland, R.F., Himeno, H. and Muto, A. Functional and structural analysis of a pseudoknot upstream of the tag-encoded sequence in *E. coli* tmRNA, *J. Mol. Biol.* 286, 733-744 (1999).
 15. Nameki, N., Chattopadhyay, P., Himeno, H., Muto, A. and Kawai, G. An NMR and mutational study of an RNA pseudoknot of *E. coli* tmRNA involved in *trans*-translation, *Nucleic Acids Res.* 27, 3667-3675 (1999).
 16. Nameki, N., Tadaki, T., Himeno, H. and Muto, A. Three of four pseudoknots in tmRNA are interchangeable and are substitutable with single-stranded RNAs, *FEBS Lett.* 470 345-349 (2000).
 17. Hanawa-Suetsugu, K., Bordeau, V., Himeno, H., Muto, A. and Felden, B. Importance of the conserved nucleotides around the tRNA-like structure of *Escherichia coli* transfer-messenger RNA for protein tagging, *Nucleic Acids Res.* 29, 4663-4673 (2001).
 18. Nameki, N., Tadaki, T., Muto, A. and Himeno, H. Amino acid acceptor identity switch of *Escherichia coli* tmRNA from alanine to histidine *in vitro*, *J. Mol. Biol.* 289, 1-7 (1999).
 19. Hanawa-Suetsugu, K., Takagi, M., Inokuchi, H., Himeno, H. and Muto, A. SmpB functions in various steps of *trans*-translation, *Nucleic Acids Res.* 30, 1620-1629 (2002).
 20. Takada, K., Takemoto, C., Kawazoe, M., Konno, T., Hanawa-Suetsugu, K., Lee, S., Shirouzu, M., Yokoyama, S., Muto, A. and Himeno, H. *In vitro trans*-translation of *Thermus thermophilus*: Ribosomal protein S1 is not required for the early stage of *trans*-translation, *RNA* 13, 503-510 (2007).
 21. Kurita, D., Sasaki, R., Muto, A. and Himeno, H. Interaction of SmpB with ribosome from directed hydroxyl radical probing, *Nucleic Acids Res.* 35, 7248-7255 (2007).
 22. Kurita, D., Muto, A. and Himeno, H. tRNA/mRNA mimicry by tmRNA and SmpB in *trans*-translation, *J. Nucleic Acids*, 2011 Article ID 130581 (2011).
 23. Asano, K., Kurita, D., Takada, K., Konno, T., Muto, A. and Himeno, H. Competition between *trans*-translation and termination or elongation of translation, *Nucleic Acids Res.* 33, 5544-5552 (2005).
 24. Kurita, D., Muto, A. and Himeno, H. Role of the C-terminal tail of SmpB in the early stage of *trans*-translation, *RNA* 16, 980-990 (2010).
 25. Lee, S., Ishii, M., Tadaki, T., Muto, A. and Himeno, H. Determinants on tmRNA for initiating efficient and precise *trans*-translation: Some mutations upstream of the tag-encoding sequence of *Escherichia coli* tmRNA shift the initiation point of *trans*-translation *in vitro*, *RNA* 7, 999-1012 (2001).
 26. Takahashi, T., Konno, T., Muto, A. and Himeno, H. Various effects of paromomycin on tmRNA-directed *trans*-translation, *J. Biol. Chem.* 278, 27672-27680 (2003).
 27. Konno, T., Takahashi, T., Kurita, D., Muto, A. and Himeno, H. A minimum structure of aminoglycosides that causes an initiation shift of *trans*-translation, *Nucleic Acids Res.* 32, 4119-4126 (2004).
 28. Konno, T., Kurita, D., Takada, K., Muto, A. and Himeno, H. A functional interaction of SmpB with tmRNA for determination of the resuming point of *trans*-translation, *RNA* 13, 1723-1731 (2007).