

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		RNA合成酵素—翻訳因子複合体の機能構造解析			
研究テーマ (欧文) AZ		Structure and function of RNA polymerase complexed with translational factors			
研究氏 代表名 者	カタカナ CC	姓)トミタ	名)コウゾウ	研究期間 B	2009 ~ 2010 年
	漢字 CB	富田	耕造	報告年度 YR	2011 年
	ローマ字 CZ	Tomita	Kozo	研究機関名	産業技術総合研究所
研究代表者 CD 所属機関・職名		産業技術総合研究所 バイオメディカル研究部門 研究グループ長			
<p>概要 EA (600字~800字程度にまとめてください。)</p> <p>Qβ ウイルスは一本鎖の RNA をゲノムとして有するウイルスであり、Qβ レプリケースによってそのRNAゲノムの複製・転写を行います。Qβ レプリケースはQβ ウイルスゲノム RNA 上にコードされているRNA依存的RNA合成酵素(βサブユニット)、宿主由来の翻訳伸長因子EF-Tu、EF-Ts、およびリボソームタンパク質S1から構成されます。Qβ レプリケースによるRNA複製・転写活性にはβサブユニットと宿主由来の翻訳因子EF-Tu、EF-Tsとが三者複合体を形成することが必要であることが知られています。しかしながら、これらの翻訳因子の、翻訳伸長過程における確立した機能を越えた役割、すなわち、RNA合成における役割は明らかにされていませんでした。</p> <p>本研究課題ではQβ レプリケースのコア複合体(βサブユニット、宿主由来の翻訳伸長因子EF-Tu、EF-Ts)の複合体形成分子機構を解明するために、コア複合体のX線結晶構造解析を行い、構造を決定しました。この解析から、EF-Tu、EF-Tsはβサブユニットと疎水的相互作用し、その結果、コア複合体の中のβサブユニットの活性触媒コアの構造が維持されていることが明らかになりました。また、生化学的解析から、EF-Tu、EF-Tsとβサブユニットの相互作用は、コア複合体形成に必要であることを示し、EF-Tu、EF-Tsがシャペロン機能を有していることを明らかにしました。鋳型RNA、合成されたRNA、付加されるヌクレオチドのコア複合体活性部位へのモデル構築から、ヌクレオチドおよび鋳型RNAの活性部位へ通じるトンネルを同定しました。また、このモデルから、コア複体内のEF-Tuが、RNA合成のプロセシブなRNA伸長反応を促進する“Modulator”としての、翻訳過程での役割を越えた、新たな機能を有する可能性を提示しました。</p>					
キーワード FA	RNA合成酵素	翻訳因子	構造	複合体	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}	Assembly of Q β viral RNA polymerase with host translational elongation factors EF-Tu and -Ts.							
	著者名 ^{GA}	Takeshita D, Tomita K	雑誌名 ^{GC}	Proc Natl Acad Sci U S A.					
	ページ ^{GF}	15733~15738	発行年 ^{GE}	2	0	1	0	巻号 ^{GD}	107
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	~	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	~	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要 EZ

Replication and transcription of viral RNA genomes in the host cells rely on host-donated proteins. In some RNA viruses from eubacteria, plants and animals, the virus-encoded RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) forms a complex with host-donated translational factors. In the 1960s~1970s, early days of molecular biology, EF-Tu and -Ts were found to be essential host-donated subunits of the replicative RNA-dependent RNA polymerase (RdRp, β -subunit) complex, Q β replicase, of the Q β virus, which infects *Escherichia coli*. The formation of a complex of the virus-encoded RdRps with the host-donated translational factors is essential for RNA replication and transcription of viral genomic RNAs in the host cells.

In this study, we present the crystal structure of the active core Q β replicase, comprising the β -subunit (RdRp), EF-Tu and -Ts. The β -subunit has a right-handed structure, and the catalytic palm domain structure is similar to the corresponding domain of other RdRps. The tight EF-Tu:EF-Ts binary complex maintains the structure of the catalytic core crevasse of the β -subunit, through extensive hydrophobic interactions between the finger and thumb domains of the β -subunit and domain 2 of EF-Tu and the coiled-coil motif of EF-Ts, respectively. Thus, EF-Tu and -Ts have chaperone-like functions in the assembly and maintenance of the structure of the active core Q β replicase. The structure of the core Q β replicase revealed two distinct tunnels leading to the catalytic site of the β -subunit. One tunnel allows the access of an incoming nucleotide and the other is for the access of the template RNA to the catalytic site. Modeling of the template RNA, the growing RNA and the incoming nucleotide in the catalytic site of the core Q β replicase showed that the structural changes of double-stranded RNA and EF-Tu:Ts should accompany the processive RNA polymerization. Thus, the host translational factors are also required for the processive RNA chain elongation during the replication and transcription of viral genomic RNAs.