

【目的】 接触性増殖阻害 (Contact-dependent growth inhibition : CDI) は腸管出血性大腸菌をはじめ、多くの病原性細菌に広く見いだされ、病原性細菌の優先的かつ爆発的な増殖に関与している。病原性細菌の有する接触性増殖阻害効果は、隣接する非同族細菌内へ接触性増殖阻害蛋白質 (CdiA 蛋白質) を挿入し、それによって隣接する細菌の増殖を阻害し、殺傷することによって生じる。最近、腸管出血性大腸菌 NC101 株、EC869 株、肺炎桿菌 *Klebsiella pneumoniae* 342 株由来の CdiA 蛋白質が、tRNA のアクセプター 3' 領域を切断する tRNase 活性を持ち、その活性には翻訳伸長因子 EF-Tu、EF-Ts と GTP が必要であることが報告された。本研究では、これらの病原性細菌由来の CdiA 蛋白質が翻訳伸長因子によって活性化され、特定の tRNA を認識し、切断する分子機構を明らかにすることを旨とした。

【方法】 腸管出血性大腸菌 EC869 株、NC101 株の CdiA 蛋白質は大腸菌内の翻訳伸長因子 EF-Tu、EF-Ts によって活性化されることがわかっているが、その分子機構も明らかにされていない。今回、翻訳伸長因子である EF-Tu、EF-Ts によって GTP 存在下で活性化され、tRNA^{Asn} のアクセプター領域を切断する腸管出血性大腸菌 EC869 株由来の CdiA^{EC869} 蛋白質が翻訳伸長因子によって活性化される分子機構を、生化学的、遺伝学的、構造生物学的手法を用いて解析した。

【結果】 一連の生化学解析、X 線結晶構造解析を通して、翻訳伸長因子 Tu、Ts によって GTP 存在下で促進される CdiA 蛋白質による tRNA 切断反応は、CdiA:Tu:GTP:Ts:tRNA (あるいはアミノアシル tRNA: aa-tRNA) 複合体を介して進行することが明らかになった。まず、隣接する大腸菌から送り込まれた CdiA 蛋白質は、Tu:GTP:Ts 三者複合体中の Tu のドメイン II にリクルートされ、CdiA:Tu:GTP:Ts 四者複合体を形成する。次に、基質であるアミノアシル-tRNA (または tRNA) が CdiA:Tu:GTP:Ts によって認識され、CdiA:Tu:GTP:Ts:aa-tRNA (または tRNA) 5 者複合体が形成される。この複合体中の Ts は tRNA 分子の複合体への親和性を高めるとともに、tRNA の 3' 末端領域および CdiA の構造変化を誘発し、結果として CdiA による tRNA 切断触媒反応を促進する。CdiA による tRNA の切断により、蛋白質合成は阻害され、最終的に細菌の増殖が抑制される。したがって、Tu:Ts 複合体は接触性増殖阻害プロセスにおいて、CdiA による tRNA の切断を促進する「反応の足場 (Reaction Scaffold)」として働き、翻訳伸長因子が蛋白質合成過程での役割とは別のこれまで知られていなかった新たな機能を有していることが明らかになった。

翻訳伸長因子による接触性増殖阻害蛋白質の活性化機構

