

29【P1】 I -071

ヒト蛋白質合成開始因子 4A と 4G の相互作用研究

○堤之 達也¹, 麻植 正子¹, 森野 重信¹, 友尾 幸司¹, 石田 寿昌¹(¹大阪薬大)

【目的】ヒトタンパク質合成開始因子のひとつである eIF4A は、mRNA の非翻訳領域において 2 本鎖 RNA の 2 次構造を解く役割を有している。この機能発現には、他の開始因子である eIF4E と eIF4G とともに eIF4F を形成することが必要不可欠である。eIF4F の形成において、eIF4A は eIF4G と直接結合しているが、その結合様式の詳細についてはいまだ明らかでない。本研究は、タンパク質合成開始反応機構解明の一環として、eIF4A の機能解析を目的とし、eIF4G との相互作用について解析を行った。

【方法と結果】eIF4G は他の isoform との相同性により、N 末端ドメイン、middle ドメイン、C 末端ドメインの 3 つのドメインに分けられている。本研究では、middle ドメインと C 末端ドメインからなる 4GMC と、C 末端ドメインのみの 4GC を調製し、それぞれのドメインと eIF4A との相互作用について検討した。ヒト eIF4A と 4GC は His タグ融合タンパク質として大腸菌より発現させ、Ni キレートセファロースを用いて精製を行った。一方、4GMC は、GST 融合タンパク質として発現させ、GST-Sepharose カラムを用いて精製し、イオン交換クロマトグラフィーおよびゲル濾過クロマトグラフィーを用いて精製した。これら 3 種の試料を用いて、表面プラズモン共鳴 (SPR) 法による相互作用解析を行った。

eIF4A をリガンドとし、4GMC および 4GC をアナライトとして作用させたところ、それぞれが異なった結合能を示し、2 ヶ所の結合部位の結合力は等価でなく、eIF4G の middle ドメインに存在する結合部位がより重要であることが示唆された。