

30【P2】I -296

リボソーム不活性化タンパク質(RIP)の基質特異性に関するドメインの探索(2)

○長澤 由実¹, 藤井 一幸¹, 近藤 俊哉¹, 水上 元², 吉川 孝文¹(¹北里大薬,²名市大薬)

【目的】リボソーム不活性化タンパク質(RIP)は植物界に広く存在するタンパク質群であり、rRNA 中の特異的部位における脱プリン反応を触媒する。一般に植物 RIP の酵素活性は、真核細胞リボソームに対しては強く、原核細胞リボソームには非常に弱いと言われている。しかし RIP の一種である PAP (pokeweed antiviral protein, 262アミノ酸)は原核細胞リボソームに対しても比較的強い酵素活性を有しており、その基質特異性を決定する部位に興味を持たれてきた。すでに PAP の C 末端側アミノ酸配列中に基質特異性に関与する部位の存在が判明しているため、今回更に C 末端側の配列を組換ええたキメラタンパク質を作成し検討を加えた。

【方法】キメラタンパク質の材料にはキカラスウリ由来 karasurin とアメリカヤマゴボウ由来 PAP を用い、PCR で作成した cDNA を pGEX ベクターに組込み大腸菌中で発現させた。RIP 活性はマウス肝臓及び大腸菌由来リボソームに対する脱プリン反応で特異的に生じる RNA 断片を検出・定量することで評価した。

【結果】PAP アミノ酸配列中の 208 から 226 番目の配列が、原核細胞リボソームに対する RIP 活性に必須であることが示唆された。現在、更に詳細な検討を行っている。

