

28Q-pm10

翻訳開始因子eIF4G - ポリA結合蛋白質間相互作用の構造生物学的解析に基づく mRNA 環状化機構の解明

○町山 麻子¹, 大澤 匡範¹, 今井 駿輔¹, 星野 真一², 堅田 利明¹, 嶋田 一夫^{1,3}
(¹東大院薬, ²名市大院薬, ³産総研)

【目的】真核生物翻訳開始因子 eIF4G は、mRNA の 5' 末端において翻訳開始を促す、翻訳開始因子複合体 eIF4F のサブユニットである。一方、poly(A)結合蛋白質(PABP)は、mRNA の 3' 末端の poly(A)に特異的に結合する。mRNA は、その両末端に存在する eIF4G と PABP の直接の結合を介して環状化しており、翻訳終結後のリボソームを効率よく翻訳開始部位へ再構成することで翻訳活性を上昇させると考えられている。本研究では、この eIF4G と PABP との相互作用を構造生物学的に解析し、mRNA 環状化機構を解明することを目的とした。

【方法】PABP 結合部位に相当する eIF4G(175-207)(以下、4G とする)および PABP の各ドメインの大量発現・精製を行った。等温滴定型カロリメトリー(ITC)により両者の相互作用解析を行った。また、NMR を用いて両者の相互作用部位および立体構造変化についての解析を行った。

【結果と考察】ITC により、4G と PABP(1-190)とは poly(A)存在下および非存在下においてそれぞれ解離定数 $2\mu\text{M}$ 、約 $45\mu\text{M}$ にて結合することが明らかとなった。このことは、eIF4G が poly(A)結合型 PABP に優先的に結合することを示しており、mRNA の環状化に寄与していると考えられる。また、4G 添加による PABP(1-190)の NMR シグナルの変化より、PABP 上の 4G 結合部位は PABP(98-190)の領域を含むことがわかった。一方、PABP(1-190)-poly(A)添加時の 4G の NMR スペクトルの変化より、単独ではランダムコイルである 4G が、PABP(1-190)-poly(A)との結合に伴い特定の立体構造を形成することが示唆された。今後、PABP 上の 4G 結合残基、4G の PABP 結合構造、および mRNA 環状化をもたらす eIF4G-PABP 相互作用の poly(A)依存性の構造メカニズムを明らかにする。