

29R-am03

タンパク質翻訳伸長因子 eEF1A1 のフィブロネクチン由来反接着性ペプチド結合部位の解析

○岡本 和良¹, 白戸 彩菜¹, 伊藤 奈央¹, 伊豫田 拓也^{1,2}, 近藤 洋輔³, 宮崎 智³, 深井 文雄^{1,2} (¹東京理大薬 分子病態学研究室, ²東京理大 界面科学研セ, ³東京理大薬 生命情報科学研究室)

【背景・目的】細胞外マトリックスの一つであるフィブロネクチン(FN)はインテグリン結合部位を持ち、細胞に接着の足場を提供する。このFN分子内にはインテグリンを不活性化して接着を抑制する機能部位があることがわかっている。我々はこの機能部位(ペプチド FNIII14)の受容体として膜発現タンパク質翻訳伸長因子 eEF1A が機能していることを明らかにした(*J Biol Chem* 287:16037, 2012)。この膜発現 eEF1A の生理的意義を明らかにしてゆくためには、eEF1A と FNIII14 の関係性をより詳しく調べる必要がある。このことからバイオインフォマティクス手法を用いて eEF1A 分子上の FNIII14 結合部位の解析を行っている。

【方法】バイオインフォマティクス手法による解析の探索範囲を絞るために、ELISA 法によって eEF1A 全長あるいはそれを構成するドメイン 1~3 を大腸菌に発現させ、精製したリコンビナント eEF1A と FNIII14 との結合能を測定した。つぎに Protein Data Bank のデータをもとに eEF1A と FNIII14 の立体構造を推定し、バイオインフォマティクス手法を用いることで相互作用部位の予測を行った。

【結果・考察】ELISA 法を用いてリコンビナント eEF1A 全長あるいはそれを構成するドメイン 1~3 と FNIII14 の結合能を測定したところ、ドメイン 3 が最も結合能が高かったが、全長には及ばなかった。このことからドメイン 3 およびその境界部位をターゲットにして Fitting 解析を行ったところ結合部位と推定される部位が複数見いだされた。さらに進化トレース法による解析を行い、これらの部位において進化的に保存されたアミノ酸を調べ、結合に重要と推定されるアミノ酸を検出した。現在アミノ酸改変 eEF1A 発現株を作製し、その FNIII14 受容体としての機能変化を解析することにより、結合部位の決定を進めている。