

27L-pm04S

ポリ A 上での PABP 多量体化の構造生物学的解析

○沢崎 綾一¹, 今井 駿輔², 横川 真梨子¹, 白井 遥子¹, 星野 真一³, 堅田 利明², 嶋田 一夫², 大澤 匡範¹ (¹慶應大院薬, ²東大院薬, ³名市大院薬)

【背景・目的】真核生物の mRNA 3'末端のポリ A には、複数分子のポリ A 結合タンパク質 (PABP) が結合し、様々な翻訳制御因子との相互作用を介して翻訳や mRNA 分解を調節する。PABP は、N 末端に 4 つの RNA 結合モチーフ (RRM1234)、C 末端に球状ドメインである PABC をもち、両者が約 170 残基のリンカーで繋がれた分子である。1 分子の PABP は 23 塩基のポリ A と結合し、PABP 分子間で相互作用することにより多量体化するが、RRM1234 のみでは多量体化しないことが示されている (Kuhn et al., 1996)。一方、我々はこれまでに翻訳終結とポリ A の分解が共役することを明らかにした (Hosoda et al., 2003)。この共役は、翻訳終結とポリ A 分解の両方に寄与するポリ A 上の PABP 多量体により担われていると考えられるが、ポリ A 上で多量体化した PABP の構造は分かっておらず、共役の分子機構も不明である。本研究は、PABP を基盤とする翻訳制御機構の解明に向けて、PABP がポリ A 上で多量体を形成する分子機構を明らかにすることを目的とした。

【結果・考察】およそ 1000 塩基のポリ A (A_{1000}) に対する結合親和性を表面プラズモン共鳴法により解析した。その結果、PABP は RRM1234 よりも 4 倍高い親和性で A_{1000} と結合することが分かった。この親和性の差は、 A_{1000} 上で隣接した PABP 分子が、PABP 分子間の相互作用を介して A_{1000} に協同的に結合していることに起因すると考えられる。そこで、PABP 分子間の相互作用領域を NMR 法により調べた結果、 A_{1000} と結合した RRM1234 はリンカーと相互作用することが分かった。さらに、¹⁵N 標識を行ったリンカーに対する NMR 滴定実験を行い、 A_{1000} と結合した RRM12 がリンカーに直接結合することを見出した。現在、PABP 分子間の相互作用部位の同定と PABP 多量体の構造モデルの構築を進めている。