

# RNA 結合タンパク質構造モデルの3次元可視化による機能部位の研究

佐藤直樹

埼玉大学理学部分子生物学科

## 背景と目的

様々な生物のゲノム塩基配列が解読され、各生物種に固有の生物機能の解明が飛躍的に進むことが期待されているが、反面、どの生物にも約半数の機能未知タンパク質遺伝子が存在しており、これらの機能解明を進める high-throughput な手段の開発が待たれるところである。多数のタンパク質の構造を決めるというプロジェクトが理研などを中心として推進されており、構造から機能の解明につなげるという新しい研究の可能性が模索されている。

私たちの研究室では、一つの研究材料として RNA 結合タンパク質を研究している。RNA 結合タンパク質には、構造的に様々な種類があるが、注目しているのは、RNA recognition motif (RRM) をもつタイプの RNA 結合タンパク質である。これらには、RNA スプライシングに関わる U1A タンパク質、ショウジョウバエの性決定に関わる Sxl タンパク質などがあるが、これらが複数の RRM を含むタンパク質であるのに対し、GRP (Glycine-rich protein) タイプのものは、1個の RRM とグリシンに富んだ C 末端領域を持ち、多くの生物では、低温その他様々な環境ストレスに応答してこのタイプのタンパク質の蓄積が誘導されることがわかっている。真核生物では多くの場合、GRP は細胞核に局在するが、植物では、ミトコンドリアに局在するものもある。また、原核生物でも、光合成を行うシアノバクテリアなどに類似タンパク質が存在する。シアノバクテリアでは GRP タイプのタンパク質を Rbp と呼んでおり、多数の遺伝子からなる *rbp* 遺伝子ファミリーが存在する。

RbpA1 タンパク質は、*Anabaena* sp. PCC7120 および *Anabaena variabilis* M3 (両者は一部の変異や挿入欠失を除き、遺伝的にはほとんど同じと考えられる) に存在する Rbp タンパク質である。このタンパク質は高温で生育した細胞にはほとんど含まれないが、30°C 以下の温度では大量に蓄積する。N 末端側の RRM ドメインは約 82 個のアミノ酸残基からなり、C 末端側には 20 残基のグリシンに富んだ領域がある。また X 線解析による構造は決められていないが、ホモロジーモデリングによる構造が推定されている。また、NMR によりこの構造が基本的に正しいことがわかっている。Rbp が結合するターゲット配列は今のところはっきり同定されていないが、ホモポリマーでは poly(U)、poly(G)などに結合する。また、SELEX を用いたターゲット配列の選抜実験の結果では、CCCGCCC のような配列もターゲットである可能性が示されている。また、部位特異的アミノ酸置換により Phe46、Tyr4 などすでに重要性が予測されていた部位以外に、Arg83 の重要性が判明した。これらの残基は、RNA と結合する分子表面を形成していることが、上述のモデリングの結果から推定される。

今回の CAVE を利用した可視化では、シートにより構成される RNA 結合表面とその

近傍に存在し Arg83 などを含む，RRM と C 末端領域の中間領域の位置関係などの検証を行い，RNA の結合に対するそれぞれの残基の役割を推定する手がかりを得ることを目的としている。

## 方法

*Anabaena variabilis* M3 株の RbpA1 タンパク質のアミノ酸配列を元に，ホモロジーモデリングにより 3 次元構造モデルを構築した。テンプレートとしては，human U1A の第一 RRM ドメインと *Drosophila* Sxl の第一 RRM ドメインを用い，そのほかにシアノバクテリアの Rbp タンパク質の配列のアラインメントを用いた。ソフトウェアとしては，Modeller version 4 を用いた。できた PDB ファイルは，molmol ソフトウェアで可視化し(図)，基本的な構造を確認した。今回の CAVE による 3 次元可視化には，PDB ファイルからレンダリングを行っていただいた。

## 結果

3 次元可視化の結果は，この要旨執筆段階で見えていないので，当日が楽しみである。今回は試験的な利用であるので，結果を見た上で，今後，さらに複雑なタンパク質の構造の可視化を試みたい。特に，リボソームや RNA ポリメラーゼなど，分子というよりも超分子複合体として複雑で重要な細胞機能を果たす装置について，3 次元可視化による研究および教育における意義を検証してみたいと考えている。

