

Functional characterization of archaeal homologs of human nuclear ribonuclease P proteins Rpp21 and Rpp29

江, 丹

<https://hdl.handle.net/2324/1806846>

出版情報：九州大学，2016，博士（システム生命科学），課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（3）



氏 名	江 丹			
論 文 名	Functional characterization of archaeal homologs of human nuclear ribonuclease P proteins Rpp21 and Rpp29 (ヒト核リボヌクレアーゼ P 構成タンパク質 Rpp21 と Rpp29 のアーキアホモログの機能解析)			
論文調査委員	主 査	九州大学	教授	木村 誠
	副 査	九州大学	教授	角田 佳充
	副 査	九州大学	准教授	片倉 喜範

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

リボヌクレアーゼ P (RNase P) は前駆体 tRNA(pre-tRNA)の 5'末端余剰配列を切断するエンドヌクレアーゼである。超好熱性アーキア (*Pyrococcus horikoshii* OT3) RNase P は、1 分子の RNA (*Phop*RNA) と 5 種のタンパク質 (*Pho*Pop5、*Pho*Rpp21、*Pho*Rpp29、*Pho*Rpp30、*Pho*Rpp38) から構成され、*Phop*RNA 単独では触媒活性を示さず、タンパク質との相互作用によりその触媒活性が発現される。構成タンパク質 *Pho*Rpp21 と *Pho*Rpp29 はヘテロ二量体を形成し、*Phop*RNA の特異性ドメインの活性化に関与することが知られているが、その作用機構については不明である。本論文は、*Pho*Rpp21 と *Pho*Rpp29 の *Phop*RNA 活性化における協調作用機構について論じたものである。

まず、構成タンパク質 *Pho*Rpp38 に His タグを付加した His-*Pho*Rpp38 を用いたプルダウンアッセイにより、*Pho*Rpp21 と *Pho*Rpp29 の *Phop*RNA に対する結合能を評価している。その結果、*Pho*Rpp21 は単独で *Phop*RNA と結合できるのに対し、*Pho*Rpp29 は *Pho*Rpp21 の非存在下では *Phop*RNA に対する結合能が弱いことを見出している。次に、*Pho*Rpp21 と *Pho*Rpp29 の *Phop*RNA 活性化に関与するアミノ酸を特定するため、*Pho*Rpp21-*Pho*Rpp29 複合体の分子表面に位置する塩基性アミノ酸を網羅的に Ala に置換もしくは欠失した変異体を調製し、RNase P の再構成実験により pre-tRNA 切断活性を測定している。その結果、*Pho*Rpp21 の N 末端 α -ヘリックスに位置する Lys53、Lys54、Lys56 と C 末端 β -ストランドに位置する Arg82、Arg84、Arg86、および *Pho*Rpp29 の C 末端 10 アミノ酸が *Phop*RNA の活性化において重要であることを明らかにしている。続いて、*Pho*Rpp21 変異体の *Phop*RNA 結合能を、上述のプルダウンアッセイにより評価したところ、C 末端 β -ストランドに位置する Arg が *Phop*RNA への結合に関与し、N 末端 α -ヘリックスに位置する Lys は *Phop*RNA との結合には関与していないことを示唆している。

最後に、*Pho*Rpp21-*Pho*Rpp29 複合体の *Phop*RNA における結合部位を *Phop*RNA の種々の RNA 断片を用いて検討した結果、*Pho*Rpp21-*Pho*Rpp29 複合体は主として *Phop*RNA の特異性ドメインの一本鎖領域 (A198-U214) に結合することを見出している。

以上の結果を総合して、*Pho*Rpp21-*Pho*Rpp29 複合体は *Pho*Rpp21 の C 末端 β -ストランドに位置する Arg を介して *Phop*RNA の P11 と P12 ヘリックスを繋ぐ一本鎖領域 (A198-U214) に結合し、*Pho*Rpp21 N 末端 α -ヘリックスに位置する Lys と *Pho*Rpp29 の C 末端 10 アミノ酸が、*Phop*RNA の pre-tRNA 結合部位の構造形成、もしくは *Phop*RNA-pre-tRNA 相互作用の安定化に関与していることを示唆している。

以上の結果は、超好熱性アーキア RNase P 構成タンパク質 *Pho*Rpp21 と *Pho*Rpp29 の RNA 活性化における協調作用の分子機構を明らかにしたもので、生物化学および構造生物学の分野において価値ある業績であると認められる。

よって、本研究者は博士 (システム生命科学) の学位を受ける資格があるものと認める。