

1999年4月15日

東京大学

独立行政法人 理化学研究所

タンパク質と一本鎖 RNA との結合の仕組みを解明

東京大学と理化学研究所は、神戸大学や京都大学との共同研究により、ショウショウバエ Sxl タンパク質と一本鎖リボ核酸(RNA)によって形成される複合体の立体構造を決定することに成功しました。

この発見は、タンパク質が一本鎖 RNA を塩基配列特異的に結合する仕組みを解明した初めての例です。これにより、様々な生命現象の制御にかかわる一本鎖 RNA 結合タンパク質が遺伝子発現の転写後調節機構を行うメカニズムの解明が進むと期待されます。

成果の詳細は、Nature (平成 11 年 4 月 15 日号) に発表されます。

生命現象は多種類のタンパク質や核酸などが構成するシステムによって営まれています。

タンパク質は、核酸の特定の塩基配列を認識して複合体を形成し、生命現象における重要な機能を発揮します。例えば、細胞の分化を担う経路のスイッチングの役割を果たしたり、新たなタンパク質を作ったりするのです。したがって、タンパク質が特定の塩基配列を認識する仕組みの研究は構造学的・生物学的に非常に重要な研究課題となっています。

近年、核酸とそれを認識するタンパク質からなる複合体の立体構造がいくつかの例で明らかにされ、核酸を認識するタンパク質の研究が進んできました。ただし、そのどれもが「DNA などの二重らせん構造を持つ核酸」と、「それを認識するタンパク質」からなる複合体を対象としたものでした。そこでは、タンパク質は二重らせんを形成する基となっている「塩基対」を認識して複合体を形成していました。

ですから、「塩基対を持たず、高次元の構造を持たない一本鎖のリボ核酸 (RNA)」と、「それを配列特異的に認識するタンパク質」の複合体の認識機構は、長年の疑問でした。

今回、東京大学大学院理学系研究科生物化学教室の横山茂之教授（理化学研究所ゲノム科学総合研究センター タンパク質構造・機能研究グループ プロジェクトリーダー兼務）らは、「ショウショウバエ Sxl タンパク質」と「トランスフォーマー（タンパク質の一種）をつくるメッセンジャーRNA 前駆体中の 12 ヌクレオチドの一本鎖 RNA」で形成された複合体について、その結晶構造を決定しました。

その結果、この複合体の結合ドメインは、今までに知られていない構造をとっていることが解りました。すなわち、

- このタンパク質は、二つ並んだ RNA 結合ドメイン（結合部位）を持っており、
- 二つの RNA 結合ドメインは、互いの β シート表面を向かい合わせにして V 字型の裂け目を作り、RNA は引き延ばされてこの裂け目に結合していて、
- RNA の塩基は、互いの中で水素結合を形成せず、また、スタッキング（塩基の

積み重なり;RNA や DNA で普通に見られる) もほとんどなく、タンパク質に向かって突き出していて、

- このため、タンパク質は RNA の塩基と主鎖の両方と広範囲に特異的な相互作用することができている。

という構造をとっていました。

また、生物学的にも興味深い発見がありました。Sxl タンパク質は、トランスフォーマーのメッセンジャーRNA 前駆体のポリピリミジントラクトと呼ばれる部分に直接結合し、その選択的スプライシングを調節することで、ショウジョウバエの性を決めていることがわかりました。

本発見により、遺伝子発現の転写後調節機構の究明が進むことが期待されます。

【論文発表者】

東京大学 大学院理学系研究科 生物化学専攻

教授	横山 茂之	(理化学研究所ゲノム科学総合研究センター タンパク質構造・機能研究グループ プロジェクトリーダー 兼務)
----	-------	--

大学院生	半田 徳子	
------	-------	--

助手	濡木 理	(理化学研究所ゲノム科学総合研究センター・共同研究員)
----	------	-----------------------------

大学院生	栗本一基	
------	------	--

大学院生	金仁 実	
------	------	--

講師	武藤 裕	
----	------	--

神戸大学 理学部生物学科

教授	坂本 博	
----	------	--

京都大学 理学部生物物理学科

教授	志村 令郎	(現、生物分子工学研究所所長)
----	-------	-----------------

(問い合わせ先)

東京大学 大学院理学系研究科生物化学専攻

横山 茂之

Tel : 03-3812-1805 / Fax : 03-5689-5609

独立行政法人理化学研究所 ゲノム科学総合研究センター

Tel : 048-467-9427 / Fax : 048-462-4675

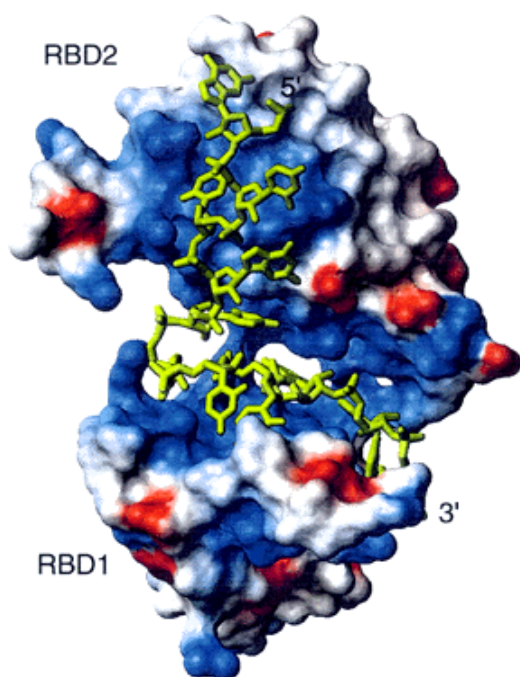
(報道担当)

独立行政法人理化学研究所 広報室 報道担当 吉垣聡子

Tel : 048-467-9272 / Fax : 048-462-4715

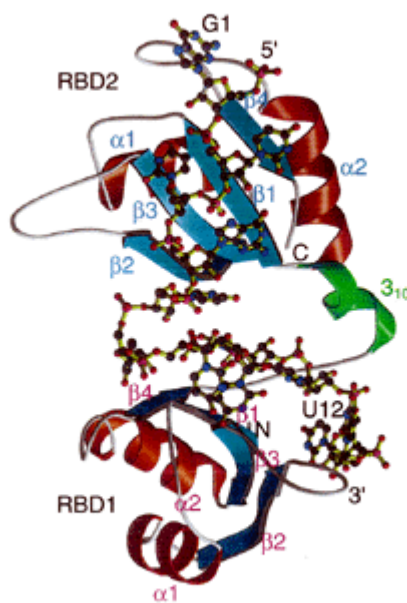
Mail : koho@postman.riken.go.jp

Sxlタンパク質複合体の表面の電荷分布



Sxlタンパク質のRNA結合ドメイン間のV字型の裂け目は正に帯電していて、そこにU6-U11のRNA主鎖が結合している。残りの3ヌクレオチドのRNA、U3-G4-U5は、RBD2 β シートの正に帯電した表面に結合している。

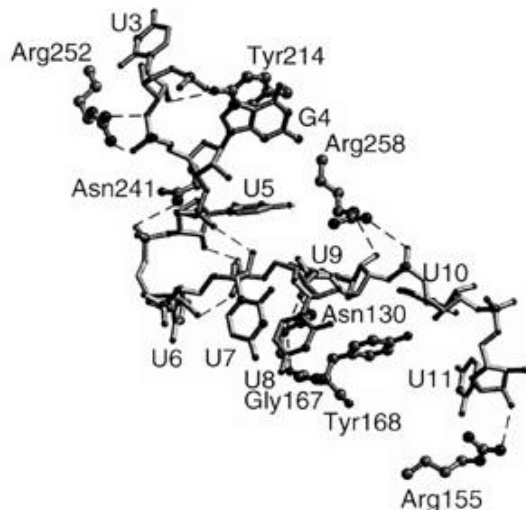
「Sxlタンパク質(RBD1-RBD2)」と「トランスフォーマーを作るメッセンジャーRNA前駆体中の12ヌクレオチドの一本鎖RNA」の複合体の構造



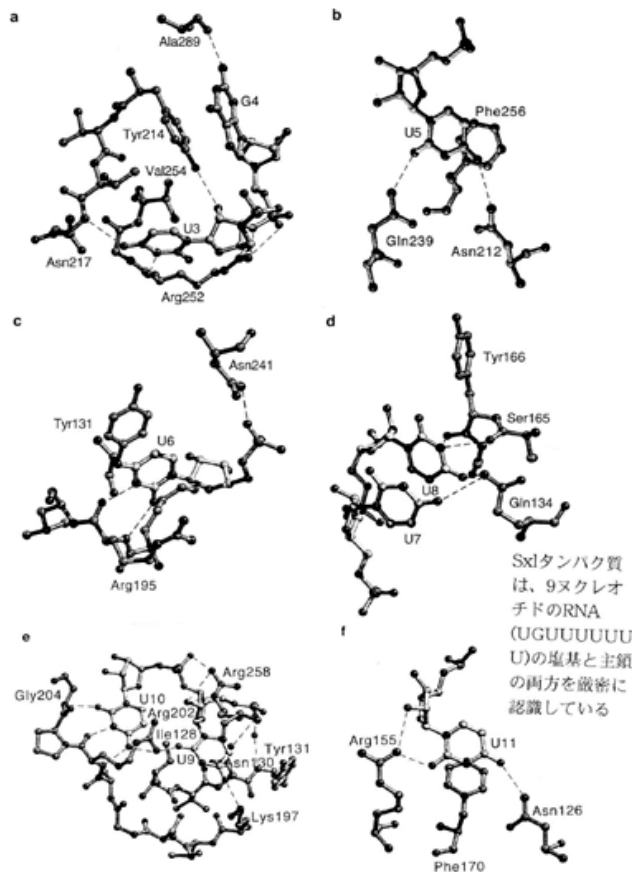
Sxlタンパク質の二つ並んだRNA結合ドメインは、互いの β シート表面を向かい合わせにしてV字型の裂け目を作り、RNAは引き延ばされてこの裂け目に結合している

Sxlタンパク質によるRNAの特異的相互作用

Sxlタンパク質複合体中のRNA部分[U3-U11(UGUUUUUUUU)]における相互作用



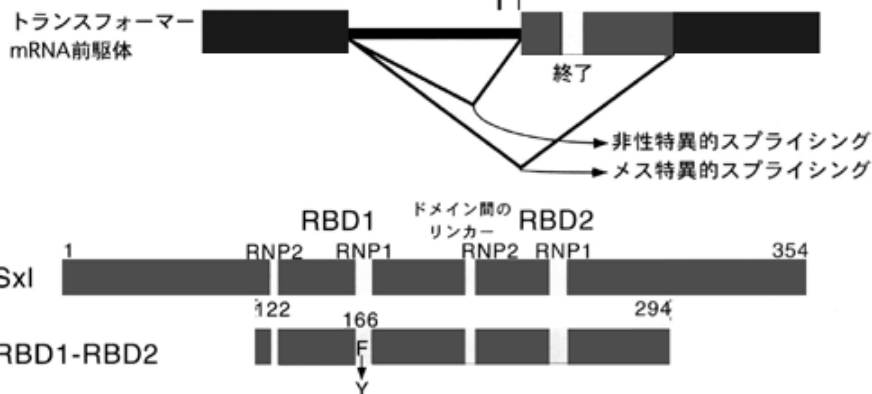
Sxl複合体中のRNAは引き延ばされ、塩基をタンパク質に向けて広げた形をとっていて、塩基対を持たない。さらに、U6の周囲に特徴的なターン構造をとる。Sxlタンパク質はRNAの主鎖を厳密に認識している。



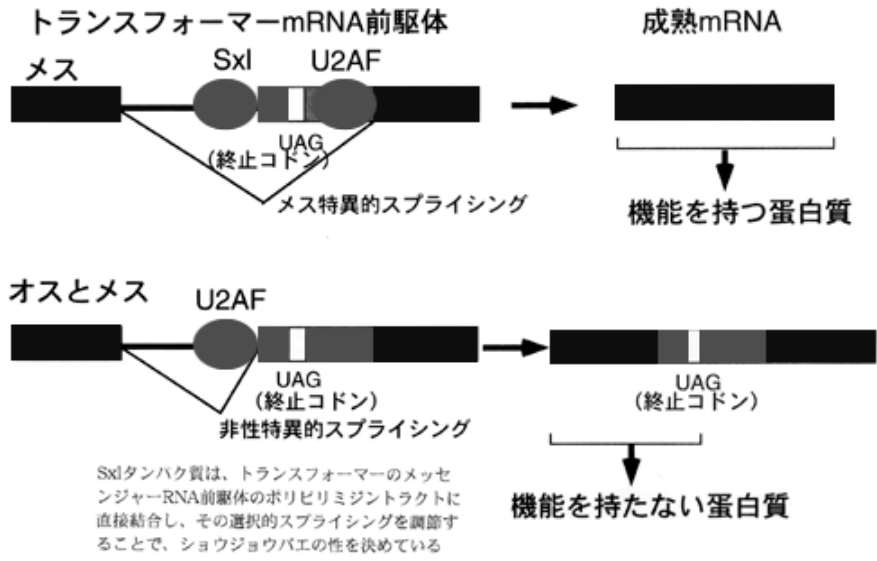
Sxlタンパク質は、9ヌクレオチドのRNA(UGUUUUUU)の塩基と主鎖の両方を厳密に認識している

結晶化に用いたタンパク質試料とRNA試料

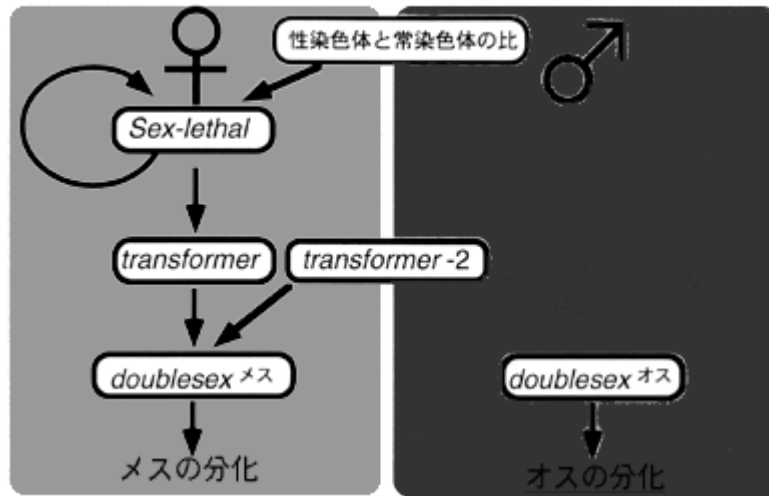
-5 -1 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12
 UUUUUUGUUGUUUUUUUUUCUAG



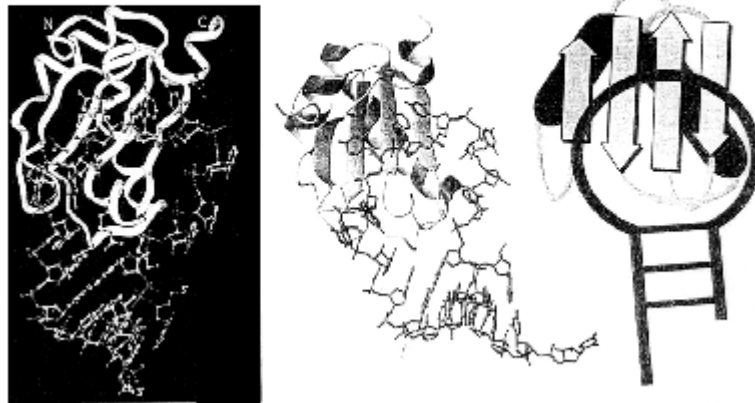
ショウジョウバエの性分化の仕組み



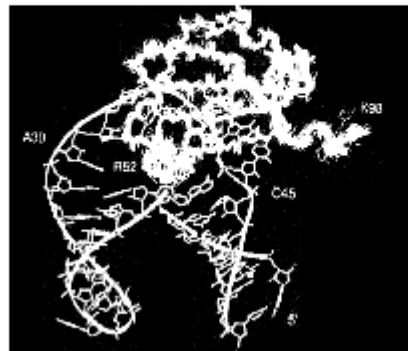
ショウジョウバエの性分化の過程



U1Aタンパク質-U1 snRNAステム=ループ複合体の構造



U1Aタンパク質-ポリA添加阻害エレメント複合体の構造



RBDを持つタンパク質の例

		結合RNA/DNA	機能
	modulo	DNA	クロマチン構造に関与
	CARG-binding factor	CARG-box (ssDNA)	アクチン 遺伝子転写制御
	MSSP-1	d(CATCTTA)	c-Myc 遺伝子転写制御
	La	RNAステムループ	pol III転写に関与
	nucleolin	pre-rRNA	rRNA maturation
	nucleolar protein 4	pre-rRNA	rRNA maturation
	GAR2	pre-rRNA	rRNA maturation
	U1 snRNP A	U1 snRNA等	スプライシング, poly A付加
	U1 snRNP 70k	U1 snRNA	スプライシング
	U2AF38	?	スプライシング
	U2AF65	polypyrimidine	スプライシング
	PTB	polypyrimidine	スプライシング
	SF2	purine-rich RNA	スプライシング
	SC35	purine-rich RNA	スプライシング
	Sx1	(G/A)+poly U	スプライシング, 翻訳制御
	Tra2	GAA repeat	スプライシング
	SAP49	branch point sequence?	スプライシング
	SRP40	UUA(U)GG(C)	スプライシング
	hnRNP A1	nonspecific?	スプライシング, mRNA輸送
	hnRNP M	?	スプライシング
	hnRNP H	poly G	?
	hnRNP L	pre-mRNA processing enhancer	mRNAプロセッシング?
	hnRNP C	nonspecific?	mRNA輸送?, 寿命制御?
	ZBP-1	zipcode (5' UTR)	mRNA輸送
	CBP20	pre-mRNA	mRNA輸送
	PUB1	poly(A/U)	mRNA輸送?
	AUF1	AU-rich element	寿命
	hnRNP D	UAG, UAG-rich element	寿命?
	ELAV/HuC	AU-rich element	mRNA輸送, 寿命
	eIF3 beta subunit	?	翻訳開始
	eIF4B	?	翻訳開始
	PABP	poly A	翻訳

RBDを持つタンパク質は、自己免疫性の疾患と関係していることが多い

自己抗体	抗体のターゲット (自己抗原)	疾患
anti-A2/RA33	hnRNP A2, B1, B2	リウマチ、SLE、混合性結合組織病
anti-A1	hnRNP A1, A1b	リウマチ、SLE、混合性結合組織病
anti-U1snRNP	U1snRNP A, 70K, C	SLE、混合性結合組織病
anti-hnRNP I	hnRNP I	強皮症
anti-Hu/ANNA-1	Huタンパク質 (HuD, HuC, Hel-N1, HuR)	ガン性ニューロバシー (主に肺小細胞ガンに合併)

Huタンパク質の3つあるRBDのうちのN末端側の2つは、ショウジョウバエSxlタンパク質の2つのRBD (RBD1-RBD2) とアミノ酸配列の相同性が高い

