

RNA 結合におけるヒト Pumilio1 タンパク質の隣接リピート R1' および R8' の重要性

(岡大院ヘルス) ○坂下 萌・中村 健人・王野 瀬里香・森 友明・森 光一・世良 貴史

Importance of the flanking repeats R1' and R8' of the human Pumilio1 protein in RNA Binding (*Graduate School of Interdisciplinary Science and Engineering in Health Systems, Okayama University*) ○Moe Sakashita, Kento Nakamura, Serika Ohno, Tomoaki Mori, Koich Mori, Takashi Sera

Human Pumilio (hPUM) is an RNA-binding protein that is responsible for functions such as transcription and translation regulation. Previous studies have shown that hPUM is composed of 10 repeated peptides, where each repeat from R1 to R8 recognizes one specific RNA base in its 8-base RNA target. However, it had been unclear how R1' and R8' at the N- and C-termini are involved in the binding of hPUM to the target RNA. In this study, we first generated R1' and R8' deletion mutants of hPUM and analyzed their respective RNA binding ability by gel shift assay. Since this experiment suggested the importance of R1'/R8', we compared the amino acid sequences of R1'/R8' of various vertebrate PUMs, including human, and found that many hydrophobic amino acid residues are conserved. In order to investigate the roles of these hydrophobic residues, we generated mutants in which all the residues were replaced with alanine and analyzed their RNA-binding ability. These results indicate that R1' and R8', which are not in direct contact with the target RNA base, play an important role in the RNA binding of hPUM, and that the contribution of R1' is larger than that of R8'. We will report the details of this study.

Keywords : RNA-binding protein; Human pumilio1; Flanking repeats R1' and R8'

ヒト Pumilio (hPUM) は、転写や翻訳制御等の機能を担っている RNA 結合タンパク質である。これまでの研究により、hPUM は 10 個の繰り返しペプチドから成り、R1 から R8 までのリピートがそれぞれ 8 塩基の RNA 標的中の特定の 1 つの RNA 塩基を認識していることが明らかになっている。しかし、N 末端と C 末端にある R1' と R8' が hPUM と標的 RNA との結合にどのように関わっているかは不明であった。本研究では、まず hPUM の R1' と R8' 欠失変異体を作製し、それぞれの RNA 結合能をゲルシフトアッセイにより解析した。この実験より、R1' /R8' の重要性が示唆されたので、ヒトを含む脊椎動物の各種 PUM の R1' /R8' についてアミノ酸配列を比較したところ、多くの疎水性アミノ酸残基が保存されていることを見出した。そこで、これら疎水性アミノ酸残基の役割を調べるため、すべてアラニンに置換した変異体を作製し、それぞれの RNA 結合能を解析した。これらの結果から、標的 RNA 塩基と直接コンタクトしていない R1' と R8' が hPUM の RNA 結合に重要な役割を果たしており、その寄与の大きさは R8' よりも R1' の方が大きいことが明らかとなった。その詳細について報告する。