慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	ポリA結合タンパク質による翻訳調節機構の構造基盤
Sub Title	Structural basis for translational regulation by poly(A)-binding protein C1 (PABPC1)
Author	横川, 真梨子(Yokogawa, Mariko)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2018
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2017.)
JaLC DOI	
Abstract	真核生物のmRNA 3'末端には約200塩基のポリAが結合している。ポリA上では, 7-9分子のポリA結合タンパク質(PABPC1)が多量体化しており, 様々な翻訳因子との相互作用を介して翻訳を調節する。PABPC1は, N末端の4つのRNA結合モチーフ(RRM1-4)とC末端のPABCドメインが, 約170残基のリンカーで繋がれた構造をもつ。これまでに, 主な翻訳因子のPABPC1上の結合部位が同定され, 結合親和性が定量的に解析されている。しかし, ポリA上のPABPC1多量体の構造が未解明であるため, 様々なPABPC1結合因子による翻訳調節メカニズムは包括的には解明されていない。そこで本研究は, ポリA上におけるPABPC1の多量体構造を明らかにし, その生物学的意義を示すことで, PABPC1を基盤とする翻訳調節メカニズムを解明することを目的とした。 ポリA上のPABPC1の多量体構造は, 電子顕微鏡, クロスリンク, 溶液NMR法により解析した。翻訳活性は, in vitro翻訳実験系により解析した。 電子顕微鏡解析の結果, ポリA存在下で複数分子のPABPC1が隙間なく並んだ像が観測された。ポリA存在下のクロスリンク実験において, PABPC1全長に比べてRRM1-4で分子間架橋が抑制されたことから, リンカーからPABCドメインが多量体化に必要であることが分かった。さらに, 溶液NMR解析を行い, リンカー中の残基番号421 - 470の領域がRRM1-4と直接結合することを明らかにした。リンカー中のこの領域を欠失させた変異体は, クロスリンク実験において分子間架橋が抑制され, in vitro翻訳系において, 野生型PABPC1に比べて翻訳活性化能が低下していることが分かった。 以上の結果より, ポリA上のPABPC1は, RRM1-4とリンカーの分子間相互作用により多量体化し, 翻訳を促進することが示唆された。 Eukaryotic mature mRNAs possess a poly adenylate tail (poly(A)), to which multiple molecules of poly(A)-binding protein C1 (PABPC1) bind. PABPC1 regulates translation and mRNA metabolism by binding to regulatory proteins. To understand functional mechanism of the regulatory proteins, it is necessary to reveal how multiple molecules of PABPC1 exist on poly(A). Here, we characterize the structure of the multiple molecules of PABPC1 on poly(A), by using transmission electron microscopy (TEM), chemical cross-linking, and NMR spectroscopy. The TEM images and chemical cross-linking results indicate that multiple PABPC1 molecules form a wormlike structure in the PABPC1-poly (A) complex, in which the PABPC1 molecules are linearly arrayed. NMR and cross-linking analyses indicate that PABPC1 forms a multimer by binding to the neighboring PABPC1 molecules via interactions between the RNA recognition motif (RRM) 2 in one molecule and the middle portion of the linker region of another molecule. A PABPC1 mutant lacking the interaction site in the linker, which possesses an impaired ability to form the multimer, reduced the in vitro translation activity, suggesting the importance of PABPC1 multimer formation in the translation process. We therefore propose a model of the PABPC1 multimer that provides clues to comprehensively understand the regulation mechanism of mRNA translation.
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2017000001-20170210

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

2017 年度　学事振興資金（個人研究）研究成果実績報告書

2018 年 2 月 21 日

研究代表者	所属	薬学部	職名	助教	補助額	300 （A） 千円
	氏名	横川 真梨子	氏名（英語）	Mariko Yokogawa		

研究課題（日本語）

ポリ A 結合タンパク質による翻訳調節機構の構造基盤

研究課題（英訳）

Structural basis for translational regulation by poly(A)-binding protein C1 (PABPC1)

１．研究成果実績の概要

真核生物の mRNA 3’末端には約 200 塩基のポリ A が結合している。ポリ A 上では、7-9 分子のポリ A 結合タンパク質（PABPC1）が多量体化しており、様々な翻訳因子との相互作用を介して翻訳を調節する。PABPC1 は、N 末端の 4 つの RNA 結合モチーフ（RRM1-4）と C 末端の PABC ドメインが、約 170 残基のリンカーで繋がれた構造をもつ。これまでに、主な翻訳因子の PABPC1 上の結合部位が同定され、結合親和性が定量的に解析されている。しかし、ポリ A 上の PABPC1 多量体の構造が未解明であるため、様々な PABPC1 結合因子による翻訳調節メカニズムは包括的には解明されていない。そこで本研究は、ポリ A 上における PABPC1 の多量体構造を明らかにし、その生物学的意義を示すことで、PABPC1 を基盤とする翻訳調節メカニズムを解明することを目的とした。

ポリ A 上の PABPC1 の多量体構造は、電子顕微鏡、クロスリンク、溶液 NMR 法により解析した。翻訳活性は、in vitro 翻訳実験系により解析した。

電子顕微鏡解析の結果、ポリ A 存在下で複数分子の PABPC1 が隙間なく並んだ像が観測された。ポリ A 存在下のクロスリンク実験において、PABPC1 全長に比べて RRM1-4 で分子間架橋が抑制されたことから、リンカーから PABC ドメインが多量体化に必要であることが分かった。さらに、溶液 NMR 解析を行い、リンカー中の残基番号 421－470 の領域が RRM1-4 と直接結合することを明らかにした。リンカー中のこの領域を欠失させた変異体は、クロスリンク実験において分子間架橋が抑制され、in vitro 翻訳系において、野生型 PABPC1 に比べて翻訳活性化能が低下していることが分かった。

以上の結果より、ポリ A 上の PABPC1 は、RRM1-4 とリンカーの分子間相互作用により多量体化し、翻訳を促進することが示唆された。

２．研究成果実績の概要（英訳）

Eukaryotic mature mRNAs possess a poly adenylate tail (poly(A)), to which multiple molecules of poly(A)-binding protein C1 (PABPC1) bind. PABPC1 regulates translation and mRNA metabolism by binding to regulatory proteins. To understand functional mechanism of the regulatory proteins, it is necessary to reveal how multiple molecules of PABPC1 exist on poly(A). Here, we characterize the structure of the multiple molecules of PABPC1 on poly(A), by using transmission electron microscopy (TEM), chemical cross-linking, and NMR spectroscopy. The TEM images and chemical cross-linking results indicate that multiple PABPC1 molecules form a wormlike structure in the PABPC1-poly(A) complex, in which the PABPC1 molecules are linearly arrayed. NMR and cross-linking analyses indicate that PABPC1 forms a multimer by binding to the neighboring PABPC1 molecules via interactions between the RNA recognition motif (RRM) 2 in one molecule and the middle portion of the linker region of another molecule. A PABPC1 mutant lacking the interaction site in the linker, which possesses an impaired ability to form the multimer, reduced the in vitro translation activity, suggesting the importance of PABPC1 multimer formation in the translation process. We therefore propose a model of the PABPC1 multimer that provides clues to comprehensively understand the regulation mechanism of mRNA translation.

３．本研究課題に関する発表

発表者氏名（著者・講演者）	発表課題名（著書名・演題）	発表学術誌名（著書発行所・講演学会）	学術誌発行年月（著書発行年月・講演年月）
Ryoichi Sawazaki, Shunsuke Imai, Mariko Yokogawa, Nao Hosoda, Shin-ichi Hoshino, Muneyo Mio, Kazuhiro Mio, Ichio Shimada and Masanori Osawa	Characterization of the multimeric structure of poly(A)-binding protein on a poly(A) tail	Scientific Reports	2018