

【目的】 マイクロ RNA は相補的な mRNA を抑制して幅広い生命現象を制御している。マイクロ RNA 自身の発現もまた様々なメカニズムによりコントロールされており、その異常はガンなど各種疾患や発生異常の原因となる。let-7 は線虫からヒトまで広く保存されたマイクロ RNA のファミリーであり、特に増殖を促進する遺伝子を標的として様々な生命機能を制御している。すなわち、分化した体細胞では let-7 が過剰な増殖を抑える一方で、幹細胞や一部のガン細胞では let-7 の発現が抑制され細胞増殖が亢進している。let-7 の抑制には RNA 結合タンパク質 Lin28 の前駆体 let-7 (pre-let-7) への結合と、続くヌクレオチド転移酵素 TUT4 によるウリジル化が重要な役割を果たしている。TUT4 は Lin28 依存的に pre-let-7 と安定な複合体を形成し、複数のウリジン塩基を pre-let-7 の 3' 末端に付加して let-7 の発現を抑制する。一部のガン細胞においては TUT4 と Lin28 による let-7 の発現抑制が増殖能に寄与しており、この経路が抗ガン剤の標的となることが期待されるが、複合体形成の構造基盤は明らかになっていない。本研究は TUT4 による Lin28 依存的な pre-let-7 オリゴウリジル化の分子構造基盤の解明を目的とする。

【方法】 ヒト TUT4 の Lin28 結合モジュール (Lin28 Interacting Module, LIM) の X 線結晶構造解析を行った。TUT4_LIM は TUT4 の N 末端側領域に相当し、zinc finger、nc-palm、fingers ドメインからなる。大腸菌で発現させた組換えタンパク質を精製・結晶化し、大型放射光施設 Photon Factory (つくば) で X 線回折データを取得して立体構造を決定した。構造情報から複合体形成のメカニズムについてモデルをたて、各種変異体タンパク質や放射性同位体を用いた *in vitro* での生化学実験によって検証した。

【結果】 X 線結晶構造解析により、ヒト TUT4 の Lin28 結合モジュールの立体構造を決定した。また生化学実験とあわせて、TUT4_LIM の zinc finger が pre-let-7 の dsRNA 部分と結合することや、zinc finger から nc-palm、fingers ドメインにわたって保存された塩基性表面で Lin28 : pre-let-7 と相互作用することなどを示した。これらの相互作用が Lin28 : pre-let-7 : TUT4 の三者複合体を安定化させることで、TUT4 の C 末端側の触媒ドメインによるオリゴウリジル化が促進されることを明らかにした。

TUT4 による Lin28 依存的な pre-let-7 オリゴウリジル化のモデル

