

Direct Interaction between the Subunit RAP30 of
Transcription Factor 2F(TF2F)and RNA
Polymerase Subunit 5,Which Contributes to the
Association between TF2F and RNA Polymerase
2

メタデータ	言語: English 出版者: 公開日: 2017-10-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 魏, 文祥 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/15628

学位授与番号	医博甲第1457号
学位授与年月日	平成13年3月22日
氏名	魏文祥
学位論文題目	Direct interaction between the RAP30 subunit of general transcription factor IIF (TFIIF) and RNA polymerase subunit 5 (RPB5) which contributes to the association between TFIIF and RNA polymerase II
論文審査委員	主査 教授 山本 博 副査 教授 原田 文夫 教授 福田 龍二

内容の要旨及び審査の結果の要旨

B型肝炎ウイルス(HBV)の多機能制御蛋白 HBx の転写修飾の標的として RNA ポリメラーゼサブユニット 5 (RPB5) が同定された。RPB5 は、RNA ポリメラーゼ II (Pol II)の中で転写制御因子との接触面として、活性化転写に関与している。Pol II は、RAP30 と RAP74 サブユニットからなる基本転写因子 TFIIF と会合することが転写の開始と伸長に必要であるが、これに関わる因子は未だ同定されていない。本研究は、RPB5 と TFIIF の相互作用の可能性を検討した。

RPB5, RAP30 及び RAP74 は、GST 融合型又は各種の標識型蛋白として大腸菌系で発現させ、精製し、*in vitro* で TFIIF を再構成した。蛋白間の相互作用は、*in vitro* では GST pull-down 法を用い、*in vivo* では組み換え型発現 COS1 細胞抽出蛋白の抗 FLAG 抗体による免疫共沈法を用いた。RAP30 の中央部のアラニン置換集約型変異を作成し、次いでアラニン置換点変異を作成した。得られた結果は、1) RAP30 単独及び rTFIIF 中の RAP30 は、*in vitro* 及び *in vivo* で、RPB5 と特異的に相互作用した。相互作用の領域は RPB5 の中央部と、TFIIF 中では RAP30 の中央部であった。2) RAP30 中央部の集約型置換変異と点置換変異蛋白を作成し、RPB5 との結合能を *in vitro* 及び *in vivo* で解析した結果、RPB5 結合に必須アミノ酸残基として Y124 と Q131 が特定された。3) Y124A 又は Q131A 変異 RAP30 を含む TFIIF は、野生型 TFIIF と異なり、COS1 細胞中の内在性 Pol II との会合が検出されなかった。この結果は、転写開始及び伸長の段階に必要な TFIIF と Pol II の会合に RPB5 と RAP30 の結合が必要であることを示した。

転写過程の Pol II と TFIIF の会合に RAP30 と RPB5 の露出ドメインの結合が必須であることを示した本研究の結果は、転写の分子生物学に寄与し学位に値する労作として評価された。