

博士学位論文審査等報告書

審査委員 主査 織田 昌幸

副査 渡部 邦彦

副査 高野 和文

副査 石田 昭人

1 氏 名

稲葉 理美

2 学位の種類

博士（農学）

3 学位授与の要件

学位規程第3条第3項該当

4 学位論文題目

Structural dynamics of c-Myb DNA-binding domain and its correlation with function
(c-Myb DNA 結合ドメインの動的構造と機能との相関)

5 学位論文の要旨および審査結果の要旨

【学位論文の要旨】

別紙に記載

【論文目録】

別紙に記載

【審査結果の要旨】

本研究は、転写因子 c-Myb の DNA 結合ドメイン R2R3 を主な対象とし、機能に重要な「生物学的揺らぎ」に着目し、動的構造と機能との相関解明を目指した。その成果として、タンパク質科学分野で重要な知見となる基礎情報を得ることができた。

タンパク質科学研究で一般的にも用いられる摂動（温度、pH、アミノ酸置換）を加え、その結果から本対象タンパク質の動的構造と機能との相関を解明し、一般的

なタンパク質にも適用可能な構造機能相関に関する知見を得た。特に動的構造については、原子レベルでの静的な立体構造情報に付与することが、生命科学研究全般での重要課題であり、その基礎知見の前進に、本研究は貢献したといえる。以下では個々の研究結果の概要を述べる。1) 生理温度付近でも、温度を変えることで、NMR 信号のブロードニングが認められた。これは明らかに変性転移温度より低温側で起こり、天然構造内でのタンパク質の揺らぎの増大に起因することを解明した。すなわち、機能を発現するために、本対象タンパク質は大きく動いていることを明らかにしたといえる。2) 溶液 pH を中性付近から弱酸性付近に変えることで、その二次構造とフォールディングの熱力学量との相関を解析した。その結果、生理条件の中性 pH 付近では、必ずしも最安定な構造ではなく、むしろ安定性を犠牲にしても一定の柔らかさを保持する状態にあることを明らかにした。また熱力学的には、二次構造形成割合と、エンタルピー変化量とは良い相関を示した。3) 疎水性コアにあるアミノ酸を変えることで、多型構造が認められる既知情報に基づき、この多型性が、構造揺らぎの増大に起因し、天然構造のエントロピーと相関するかの実験的検証を目指した。DNA 結合実験、タンパク質フォールディング実験、いずれからも、多型性を示す変異体で、天然構造 (DNA 結合前構造) のエントロピー準位の上昇が示され、同構造の揺らぎの増大が証明された。4) R2 と R3 をつなぐリンカー部分が、各ユニットの動的構造を制限しうるかを、同部位のアミノ酸置換体を用いて検証した。フォールディング解析実験から、天然状態の揺らぎの程度が、変性状態のそれよりも大きく上昇するという結果となり、リンカー部分が天然構造の揺らぎを制限し、DNA 結合機能に重要な役割を果たしていることを明らかにした。

以上、DNA 結合タンパク質 c-Myb R2R3 の構造機能に関する一連の研究成果は、タンパク質の動的構造と機能との相関解明に貢献する重要な基礎情報となり、本研究科の博士の学位にふさわしい内容と研究レベルであると判断した。

6 最終試験の結果の要旨

平成 28 年 2 月 9 日 (火) 午後 1 時より、博士学位論文発表会を、本学附属図書館 3 階視聴覚室にて、公開で行った。口頭発表のあと、質疑応答が行われた。質問の内容は、結合機能解析を温度や pH を変えて行うとどうなるか、揺らぎの機能への寄与を一般化するためにはどうすべきか、NMR 時間軸で見えない揺らぎの検出をどうすべきか、本研究対象蛋白質の知見を一般化できる部分やそのためにはどうすべきか、本研究で用いた変異は生物の表現型としてどのように表れるか、等、多岐に及ぶものであった。いずれの質問に対しても、的確に回答した。

最終試験の結果については、審査委員全員一致で合格とした。