

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 夏目 亮

放線菌 *Streptomyces griseus* の二次代謝および形態分化は、自己調節因子 A-ファクターにより調節されている。A-ファクターは、 γ -ブチロラクトン環を有する低分子性の微生物ホルモンであり、特異的な受容体 ArpA に結合する。ArpA はリプレッサーとして機能する DNA 結合蛋白質であり、A-ファクターと結合することによって標的遺伝子のオペレーター領域から解離し、その結果 A-ファクターカスケード系の遺伝子群の転写が次々と誘導される。同様の自己調節因子-レセプター系は、二次代謝に関わる遺伝子群の転写を制御するための放線菌に共通した機構と考えられている。本論文は、自己調節因子レセプターの結晶構造解析により、自己調節因子-レセプター系の転写調節の分子機構を原子レベルで明らかにしたものである。

自己調節因子レセプターの結晶化にあたり、まず ArpA の結晶化を試みたが、ArpA は溶液中で非常に不安定な性質を持つため結晶の取得には至らなかった。そこで DNA 結合能を持ち、ArpA 同様にリプレッサーとしての機能を持つ、*S. coelicolor* A3(2) の ArpA 相同蛋白 CprB の結晶化および構造解析を行った。PEG6000 を沈殿剤として用いた同一の結晶化条件において、Form A、B および C の 3 種類の CprB の結晶が得られた。重原子としてセレン元素を含む Form A の結晶構造を多波長異常分散法により 2.4Å 分解能で決定した。続いて Form B、C の結晶構造を Form A の立体構造を初期モデルとして分子置換法により解析し、Form B は 2.3Å 分解能で、Form C は 3.0Å 分解能でそれぞれの結晶構造を決定した。

CprB は二量体を形成しており、各サブユニットは 10 本の α -ヘリックスで構成され、N 末端側の DNA 結合ドメインと C 末端側の自己調節因子が結合する調節ドメインからなっ

ていた。2つのドメインは、N末端側から4番目の非常に長いヘリックス (Helix-4) によりつながっていた。調節ドメインのリガンド結合に直接関与すると考えられる Trp127 周辺では、自己調節因子レセプター間で保存性の高い疎水性アミノ酸残基によるポケット構造が形成されており、このポケットは自己調節因子結合部位であると考えられた。また、3種類の結晶構造は、特に Helix-4 よりも N末端側の領域の構造が異なっており、DNA結合ドメインの位置は環境によって容易に変わりうるということが明らかになった。Helix-4 はリガンド結合ポケットの近傍に位置するため、リガンドが結合すると Helix-4 の領域に構造変化が起き、その結果 DNA結合ドメインの位置も変化すると考えられた。CprB の構造は自己調節因子レセプターのモデル構造であり、本構造から得られた知見は、他の自己調節因子レセプターにも当てはめることができると考えられる。さらに、CprB の構造的な特徴は分子機構の詳細な研究が行われている大腸菌の TetR と共通性を持っていたことから、自己調節因子レセプターの転写調節の分子機構は次のように考えられる。自己調節因子が C末端側の調節ドメインに結合することによって Helix-4 が分子の外側に開く。それに伴い DNA結合ドメインも分子の外側に開いて、自己調節因子レセプターは DNA結合能を失ったコンフォメーションに変化する。その結果、制御を受けている遺伝子の転写が開始されるというものである。

本研究により、放線菌の自己調節因子レセプターの立体構造が初めて明らかにされた。また、CprB の結晶構造から自己調節因子レセプターの転写調節の分子機構も推定された。本研究は、放線菌の自己調節因子-レセプター系の制御機構に関して、構造生物学的に全く新規な知見をもたらした先駆的な研究である。よって審査委員一同は、本論文が、博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。