

審査の結果の要旨

氏名 中西 民 二

本論文は、4章からなる。第1章は序章である。第2章では、真核生物遺伝子翻訳終結因子 GSPT/eRF3 の溶液中での立体構造および PABP(poly-A RNA 結合タンパク質)との相互作用の解析について述べられている。第3章では、高分子量タンパク質複合体の相互作用界面を同定する方法の開発について述べられている。第4章は終章である。

GSPT/eRF3 は、真核生物の遺伝子翻訳終結反応において中心的役割を果たすタンパクであり、同じく翻訳終結因子である eRF1 と相互作用することで、リボソームからの新生ポリペプチド鎖の解離反応を引き起こす。GSPT は、同時に PABP とも相互作用することが知られている。PABP は mRNA の 3'末端に位置する poly-A RNA と相互作用することで mRNA の安定化に関与する。このことは、GSPT が翻訳終結と同時に mRNA の制御にも関与していることを示唆するものである。しかし、GSPT の機能発現メカニズムについては、明らかにされていない点が多い。

本論文第1章(序章)に続く第2章では、まずNMR法を用いた GSPT タンパク質 N 末端ドメインの立体構造解析について述べている。CD および NMR スペクトルの解析から、GSPT の Nドメインは溶液中では一定の立体構造をとらないことが示された。さらに、この構造が PABP との複合体の形成に伴っても、その立体構造におおきな変化が生じないことを明らかにした。

論文提出者はさらに、GSPT および PABP における相互作用領域の同定をおこなった。PABP における相互作用領域は、C 末端側に位置する約80アミノ酸残基から構成される構造ドメイン PABC に対応し、GSPT における相互作用領域はN末端側の30アミノ酸残基からなる一次配列であることが明らかになった。GSPT における相互作用領域は、すでに同定されていた PABC 結合タンパク質にみられる PABC 認識配列よりも、より広範囲に及んでいることが明らかとなった。また、同定された領域に着目し、他の生物種のホモログとの配列比較から、この領域には重複した配列のパターンが含まれていることが認められ、それぞれの配列のみのフラグメントが PABC と相互作用することを示した。さらに、NMR解析により1分子のGSPTに対し2分子のPABCが相互作用することが明らかとなった。この研究は、初めてGSPTとPABPの相互作用メカニズムを明らかにした点で、意味深い。

次に、GSPTと PABC の複合体のNMR解析を行っている。まず、GSPTに含まれる2個の PABC 認識配列が、それぞれ PABC 分子上の同一の面を介して相互作用することが示されている。さらに、結合状態のGSPTフラグメントを選択的に観測することで、非結合状態でアンフォールド状態にあったGSPTが結合状態で β ターン構造を形成していることが明らかとなった。

以上の研究結果をふまえた上で、GSPTとPABPが相互作用するメカニズムが mRNA 分解のサイクルと関係しているとの考察を行っている。また、GSPT の Nドメインのアンフォールド状態に着目し、mRNA 上での GSPT および PABP の位置関係との関連についても指摘している。

第3章では、高分子量タンパク質複合体の分子間界面を同定する新規NMR測定法の開発を行っている。これは、論文提出者がすでに開発を行った交差飽和法をより高分子量の分子へと適用できるように改良を行った研究である。従来の方法では、複合体状態にある分子を直接観測するため、観測可能な分子量に限界があった。

方法の開発にあたり、複合体の分子量が164kDa を超えるプロテインAのBドメイン(FB)とマウス IgG1 からなる FB-IgG 複合体を取り上げている。まず、観測側の分子を ^2H と ^{15}N で均一に安定同位体標識をおこない、さらに非標識の IgG と混合しサンプルを調製している。このとき、2分子間の相互作用が弱いことから、過剰量の FB を添加することで選択的に非結合状態にある FB 分子のみを観測できるような条件を見いだしている。この条件のもと交差飽和実験を行い、非結合状態の FB 分子において交差飽和の影響が保持されていることを示している。またこのとき得られた結合界面は、すでに明らかとなっている結合界面と一致することからこの方法の妥当性を示している。これまで、分子量が 100kDa を超えるような分子複合体の結合界面を原子レベルで同定された報告の例はない。したがって、この結果およびこの方法が汎用性に富む原理に基づくことは、特筆すべき成果である。

以上の研究において、すべて論文提出者が主体となって行ったものである。これらの研究成果は、遺伝子翻訳終結メカニズムの解析、またタンパク質相互作用解析において有益な知見であり、博士(薬学)の学位を授与するに値するものと認められる。