

# 論文審査の結果の要旨

氏名 渡邊 正人

当該論文は全7章より構成されている。第1章は序論である。第2章は、解析に用いる Transducer of ErbB2,1 (TOB1) 蛋白質と CNOT7 蛋白質の調製系の確立を目的とし検討を行うと共に、発現・精製段階での各蛋白質の状態を分子量の観点から考察している。大腸菌発現系において発現させた全長の TOB1 は、封入体を形成していたため、凝集抑制剤、界面活性剤を用いた可溶化と精製を行っているが、単離は困難であった。一方、CNOT7 に関しては単量体を得る条件を確定できている。第3章は、TOB1 の1次配列に着目し、7種類の欠損変異体を調製する系を確立している。発現状況から不溶性化の要因を含んでいる領域を303位からC末端までと特定している。特徴的な配列である poly P, poly Q 配列に着目し作成した DM1 (1-236)、DM2 (1-262) のサイズ排除クロマトグラフィーの結果からは、溶液中での最小サイズが2量体程度であることが示され、球形からはかけ離れた形状であると考察している。

第4章では、DM0 (1-112)、DM1、DM2 の溶液中の構造の解析を行っている。DM1 と比較し、DM2 は緩くフォールドされた分子であるにも関わらず、2次構造含量が多く、poly P、poly Q 領域が TOB1 の立体構造の維持に寄与しているとの情報を得ている。小角 X 線散乱法 (SAXS) で得られたデータを用いて行った DM1 と DM2 の分子モデリングでは、共に棒状の分子であることが示され、サイズ排除クロマトグラフィーの結果を裏打ちする結果となっていた。第5章では TOB1-CNOT7 間の相互作用解析を共精製、等温滴定型熱量計 (ITC)、表面プラズモン共鳴法 (SPR) の手法を用いて解析している。SPR を用いて結合前後、遷移状態の熱力学的パラメータ変化量を算出し、poly P、poly Q 配列の効果によって結合に伴い非結合領域の構造変化が生じているとの考察を行っている。相互作用解析を通じて、TOB1 の天然変性領域に関する性質を提案できている技術的な点と、第3の相手分子の結合活性が変化する可能性を含んでおり、大変興味深い結果となっていた。第6章では、円偏光2色性 (CD) スペクトルを TOB1-CNOT7 混合溶液に関し行うことで、第5章での DM2 が起こす構造変化の検出を試みている。DM2 においては2次構造の減少が起こっていることから、DM2 は遷移状態で2次構造、3次構造の変化を起こしていることが示唆されている。第7章は総括となっており、TOB1 の関与する mRNA 分解における更なる考察を行っている。

以上、当該研究では、TOB1 の欠損変異体と CNOT7 の結合前後における構造と、熱力学的な解析により、TOB1 の天然変性領域が起こす変化を検出することに成功している。一方、天然変性領域に対する他の蛋白質の結合活性の変化が考えられることから、TOB1 の関与する細胞内イベントに与えている影響も大きいと考えられ、生物学的視点からも重要な示唆を与えるものと思われる。

審査において以上の点を評価し、博士 (生命科学) の学位を授与できると認める。