

論文試験の結果の要旨

氏名 江原 晴彦

本論文は6章から構成される。第1章は序論であり、RNAポリメラーゼの生体内における役割やその分類について簡潔な説明がなされている。さらに、真核生物型 RNA ポリメラーゼの立体構造に関するこれまでの研究と未解決の課題についてその要約が記されている。

第2章においては、ピキア酵母に内在する RNA ポリメラーゼ I, II 及び III の精製方法が述べられている。内在性複合体の大量調製は一般に容易ではないが、ピキア酵母の利用や精製条件の検討を行うこと等により、結晶化に適した純度の RNA ポリメラーゼを得るための現実的なプロトコルが確立されている。

第3章では、ピキア酵母 RNA ポリメラーゼ II の X 線結晶構造解析に関して、その手法と結果が説明されている。RNA ポリメラーゼ II 単体に関しては3つの異なる結晶系について、結晶化と構造解析の結果が記されている。それに加えて、基本転写因子の一つである TFIIB と、RNA ポリメラーゼ II との複合体に関しても、X 線結晶構造解析の方法が述べられている。本研究においては、広範な結晶化条件の探索が行われていることに加え、必ずしも一般的でない結晶化試薬等が試されており、論文提出者の創意工夫を見ることができる。さらに、構造解析についても比較的新しい手法が取り入れられており、技術面での先進性をうかがうことができる。

第4章においては、第3章で解明したピキア酵母 RNA ポリメラーゼ II やその複合体の立体構造に関して、その特徴が述べられている。単体構造に関して、既に結晶構造が解明されている出芽酵母 RNA ポリメラーゼ II との構造比較が行われており、両者が大きく異なるコンフォメーションを持つことが説明されている。また、同じピキア酵母 RNA ポリメラーゼ II の間においても結晶系によってコンフォメーションが異なることを示した上で、その背後に存在し得る RNA ポリメラーゼ II の可動性や、その可動性が RNA ポリメラーゼによる転写の分子メカニズムに寄与を及ぼす可能性に関して議論を行っている。さらに、TFIIB との複合体構造に関しては、TFIIB 部分が既知構造と異なる新たなコンフォメーションを取り得ることを示した上で、その役割に関して新たな提案を行っている。本研究で明らかにされた様々な異なるコンフォメーションは、いずれも予想することが困難であった

ものであり、高い学術的価値を持つ物と判断できる。

第5章では、RNAポリメラーゼIIIに関して、その部分複合体の大腸菌を用いた再構成方法が述べられている。さらに、その一つである分裂酵母由来 C17/25 複合体に関して、X線結晶構造解析が報告されている。以前に行われた出芽酵母由来の結晶構造を根拠として、RNAポリメラーゼIIIのC17/25複合体はRNAポリメラーゼII等の該当部位とは大きく異なるコンフォメーションを持つと考えられていた。しかし本論文においては、結晶構造に加えて、その保存性や表面の性質の解析、さらには種間の配列比較等を組み合わせることにより、以前の説とは異なる結果を導いている。さらに、その過程で用いられた解析手法はいずれも高度なものであり、論文提出者の結晶構造や配列解析に対する理解を見ることができる。

第6章においては、全体のまとめ、及び今後の展望が述べられている。本論文は、巨大なタンパク質複合体の構造変化という困難な課題に取り組み、新たな発見と更なる課題を導き出したものであり、その挑戦は高く評価することができる。

なお、本論文の第2章から第4章については横山茂之、関根俊一、梅原崇史、須賀則之、肥後聡明との、第5章に関しては横山茂之、関根俊一との共同研究であるが、論文提出者が主体的に分析及び検証を行ったものであり、論文提出者の寄与が十分であると判断できる。

したがって、博士(理学)の学位を授与できると認める。