

論文審査の結果の要旨

氏名 村山 祐子

本論文は 6 章からなる。第 1 章は、イントロダクションであり、当該分野におけるこれまでの研究と課題について述べられている。論文提出者が研究対象とした RNA ポリメラーゼは、細胞内における遺伝子の転写を担う酵素である。RNA ポリメラーゼは転写の各局面において、様々な転写因子ないし RNA と相互作用することによって複雑な制御を受けており、これらの制御機構の構造基盤については未解明の部分が多い。論文提出者はこのような RNA ポリメラーゼの制御機構の中で、後退と RNA 切断という基本的かつ重要な機構に着目し、構造解析と生化学的解析を行った。後退と RNA 切断は転写の速度と正確性の維持に重要な機構である。本章における記述からは、論文提出者が関連分野の研究背景をよく理解した上で、学位論文の主題としてふさわしい、価値のある研究テーマ・目的を設定したと評価できる。

第 2 章では、細菌型 RNA ポリメラーゼの後退状態の複合体の再構成と特性解析、X 線結晶構造解析について述べられている。論文提出者は、高度高熱菌 *Thermus thermophilus* 由来の RNA ポリメラーゼと核酸構造部を用いて後退状態の細菌型 RNA ポリメラーゼ複合体を再構成し、この複合体の性質を RNA 切断アッセイによって確認した上で X 線結晶構造解析を行っている。ここで決定された構造は細菌型 RNA ポリメラーゼについて初めて解明された後退状態の結晶構造であり、これまでの生化学的解析等から予想されていた RNA 切断機構と整合性のある構造が明らかになった。また、RNA ポリメラーゼの活性制御に重要なトリガーグループと呼ばれるモチーフが触媒部位から離れたコンフォメーションをとっていることが明らかになった。

第 3 章では、転写伸長複合体の X 線結晶構造解析について述べられている。伸長複合体の結晶構造は先行研究によって報告されているが、本論文では第 2 章で決定した後退状態の構造との比較をより信頼性のあるものとするため、第 2 章で用いた核酸構造部から後退状態を再現する RNA 3' 端の突出部分のみを除いたものを用いて、活性のある伸長複合体を再構成し、構造を決定した。この構造から、後退状態の複合体と転写伸長活性のある複合体で、RNA ポリメラーゼの全体構造に変化がないことが改めて確認された。また、後退状態において観測されたものと同様のトリガーグループのコンフォメーションが、伸長複合体においても存在することが明らかになった。

第 4 章では、RNA 切断の促進因子 Gre factor を結合した後退状態の細菌型 RNA ポリメラーゼの結晶化と構造解析について述べられている。論文提出者は *T. thermophilus* にお

る RNA 切断の促進因子である GreA と切断促進活性を持たない Gre factor ホモログである Gfh1 のハイブリッドタンパク質を利用して、先行研究において知られている Gfh1 を結合した伸長複合体の結晶化条件と同様の条件で、ハイブリッドタンパク質を含む結晶を得ることに成功した。ここで決定された構造は、切断促進因子を結合した RNA ポリメラーゼについて初めて解明された結晶構造である。この構造から、切断促進因子を結合した RNA ポリメラーゼの全体構造は、通常の伸長複合体から大きく変化した「ラチェット状態」であり、切断促進活性を持たない Gfh1 を結合した複合体と同様であることが明らかになった。また、Gre factor の活性に重要な保存残基は生化学的解析等から予想されていたとおり、RNA ポリメラーゼの触媒部位近傍に結合していることが明らかになった。

第 5 章では、第 2 章および第 4 章において決定された構造の比較と、これに基づく生化学的解析から、RNA 切断における RNA3'端部分の経路が Gre factor の結合によって変化することを示している。この解析は、RNA ポリメラーゼ単独の活性による RNA 切断と、切断促進因子が結合した複合体における RNA 切断の機構が大きく異なることを明らかにしたものである。

第 6 章では、第 2 章から第 5 章までの内容をふまえた総合的な考察が述べられている。

本論文に記載された研究は、RNA ポリメラーゼの基本的な制御機構の構造基盤を明らかにしたものであり、当該分野において重要な意義を持つと評価する。また、論文提出者は、当該分野における包括的知識と議論の能力を十分に有していると判断する。論文は全体にわたり、論理的で明快な文章で記述されている。

なお、本論文第 2 章は、関根俊一・横山茂之との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。