



Title	高速原子間力顕微鏡による転写因子の動的過程に関する研究
Author(s)	辻, 明宏
Citation	大阪大学, 2025, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/101732">https://hdl.handle.net/11094/101732</a>
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

氏 名 （ 辻 明 宏 ）	
論文題名	高速原子間力顕微鏡による転写因子の動的過程に関する研究
<p>論文内容の要旨</p> <p>転写因子は遺伝子発現の調節に重要な役割を果たすが、広大な核内で数nmの標的配列をどのように見つけ出すかは重要な生物学的課題となっている。これまで、転写因子は二量体形成とDNAに沿った拡散というメカニズムにより標的配列を効率的に探索すると提唱されているが、単量体と二量体におけるDNA上での動態の違いや標的配列の認識効率などの詳細は不明である。高速原子間力顕微鏡（高速AFM）は生体分子の構造動態をナノスケールで観察できるが、転写因子に関する研究は一例のみで、二量体形成過程や標的配列の探索過程を再現できていなかった。本研究では、単量体と二量体の標的配列認識過程の違いを解明することを目的とし、青色光により機能制御できる転写因子Photozipper（PZ）をモデルに、以下の高速AFMによる研究を行った。まず、PZの単量体と二量体の詳細構造を観察し、青色光照射による可逆的な二量体形成過程を一分子レベルで捉えることに成功した。さらに、PZの単量体が分子内で構造変化を起こすことを発見し、その二量体形成における重要性を示唆した。続いて、転写因子のような小さな観察対象でも高いクオリティの高速AFM像を安定に取得するため、帯域をさらに広げた高速AFMスキャナーの開発を行った。有限要素法によりスキャナーの板バネ構造を解析し、最適な構造パラメータを決定し、スキャナーを製作した。最後に、PZのDNA上における動態観察を行った。非標的DNAを含めた観察系を構築することで、先行研究では再現できていなかったPZによる標的配列の探索過程を観察し、DNA上での拡散過程と標的配列に対する特異性を示した。また、PZの単量体と二量体のDNA上での動態観察により、PZ分子が標的配列に接近したにもかかわらず、通過してしまう現象を見出した。そこで標的配列の認識効率を解析すると、単量体よりも二量体の方が高い認識能を持つことが明らかになった。本研究の結果から、PZの二量体形成が標的配列への結合だけでなく、認識能を制御していることが示唆された。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 （ 辻 明 宏 ）			
	(職)	氏 名	
論文審査担当者	主 査	教 授	阿 部 真 之
	副 査	教 授	中 村 芳 明
	副 査	教 授	南 川 丈 夫
<p>論文審査の結果の要旨</p> <p>本博士論文では、単量体と二量体の標的配列認識過程の違いを解明することを目的とし、青色光により機能制御できる転写因子Photozipper（PZ）をモデルに、以下的高速AFMによる研究を行った。転写因子は遺伝子発現の調節に重要な役割を果たすが、広大な核内で数nmの標的配列をどのように見つけ出すかは重要な生物学的課題となっている。これまで、転写因子は二量体形成とDNAに沿った拡散というメカニズムにより標的配列を効率的に探索すると提唱されているが、単量体と二量体におけるDNA上での動態の違いや標的配列の認識効率などの詳細は不明である。高速原子間力顕微鏡（高速AFM）は生体分子の構造動態をナノスケールで観察できるが、転写因子に関する研究は一例のみで、二量体形成過程や標的配列の探索過程を再現できていなかった。具体的な研究内容としては、まず、PZの単量体と二量体の詳細構造を観察し、青色光照射による可逆的な二量体形成過程を一分子レベルで捉えることに成功した。さらに、PZの単量体が分子内で構造変化を起こすことを発見し、その二量体形成における重要性を示唆した。続いて、転写因子のような小型な観察対象でも高いクオリティの高速AFM像を安定に取得するため、帯域をさらに広げた高速AFMスキャナーの開発を行った。有限要素法によりスキャナーの板バネ構造を解析し、最適な構造パラメータを決定し、スキャナーを製作した。最後に、PZのDNA上における動態観察を行った。非標的DNAを含めた観察系を構築することで、先行研究では再現できていなかったPZによる標的配列の探索過程を観察し、DNA上での拡散過程と標的配列に対する特異性を示した。また、PZの単量体と二量体のDNA上での動態観察により、PZ分子が標的配列に接近したにもかかわらず、通過してしまう現象を見出した。そこで標的配列の認識効率を解析すると、単量体よりも二量体の方が高い認識能を持つことが明らかになった。本研究の結果から、PZの二量体形成が標的配列への結合だけでなく、認識能を制御していることが示唆された。以上により、博士（理学）の学位論文として価値のあるものと認める。</p>			