



Title	核磁気共鳴による調節遺伝子核酸の構造および蛋白質との相互作用の研究
Author(s)	李, 尚鍾
Citation	大阪大学, 1987, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35965
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【1】

氏名・(本籍)	李	尚	鍾
学位の種類	理	学	博
学位記番号	第	7811	号
学位授与の日付	昭和62年7月9日		
学位授与の要件	理学研究科生物化学専攻		
	学位規則第5条第1項該当		
学位論文題目	核磁気共鳴による調節遺伝子核酸の構造および蛋白質との相互作用 の研究		
論文審査委員	(主査) 教授 京極 好正		
	(副査) 教授 濱口 浩三 教授 崎山 文夫 助教授 上杉 晴一		

論文内容の要旨

DNAに書き込まれた遺伝情報の発現の制御は調節蛋白質と呼ばれる一群の蛋白質がDNAの特定の塩基配列を認識して結合することにより行われる。蛋白質がDNAの特定の領域を識別する際にはアミノ酸の側鎖と塩基との間に、どのような結合が生ずるのであろうか。また、結合の際、DNAあるいは蛋白質にどのような変形が伴うのかはまだ詳しく知られていない。

本研究では、核磁気共鳴法を用いてλファージのcroリプレッサーが結合するオペレーター部位のDNAの構造と、結合によって惹き起こされる構造変化に注目して研究を行った。λ遺伝子の転写にはλリプレッサーとcroリプレッサーが関与し、右オペレーター中の17塩基対からなる3箇所に拮抗的に結合し、その結合の強弱によってRNAポリメラーゼの転写の方向を決定する。croはその中でO_R3といわれる部位に最も強く結合する。

対象として化学的に合成されたO_R3(17塩基対)、共通の塩基配列を持つファージφ80のO_R2(19塩基対)および塩基配列に非特異的な結合の例としてcAMP結合蛋白質CRPのlac遺伝子での結合部位(22塩基対)の3種のDNAフラグメントを用いた。

核酸中の塩基対が形成されるとそのイミノプロトンは溶媒との交換が遅くなり、軽水中でシグナルが検出される。NOEの現象を利用して、これらのシグナルを各塩基対に帰属することができた。3種のDNAフラグメントについてすべてそれを行った。

温度を上昇させると塩基対の開裂が激しくなり、イミノプロトンのシグナルは消失する。その程度を見れば塩基対開裂の度合が定量的に測定される。O_R3についてそれを行ったところ、両端に近い側の開裂が激しく中央部ではAT対が著しい。交換速度の温度変化の測定から、塩基対開裂の活性化エネルギー

ギーをA T対について約15kcal/mol, G C対について25kcal/molと求めた。

ϕ 80-O_R2について温度変化を行ったところ2重らせんの開裂以前に、中央のA Tが多い領域で構造の転移が生ずることがわかった。このA T領域はPribnow boxと称せられるところでもあり、この部位には特別の構造上の歪みが生じていることが示された。

これらのDNAフラグメントにλファージのcroを加えて、構造の変化の有無を見た。複合体についてもイミノプロトンシグナルの帰属を行った。croの存在しない時O_R3との比較からcroが直接接する部位はもとより、croの結合しない中央部にも変形が大きいことが認められ。φ80-O_R2の左側の6塩基対はλ-O_R3の配列と等しい。この部分では変形が生じているが、他の部分には、変化が認められなかった。CRP結合部位22merではcroが結合しても構造変化は認められなかった。これらの結果から、croとDNAフラグメントの結合に塩基配列特有のものと一般的なものがあり、それに伴うDNAの構造変化の存在の有無が示された。

croを軽水中で測定すると、アミドプロトンのシグナルが測定される。その一部についてやはり帰属を行った。そこにDNAフラグメントを加えると、シフトするものとそうでないものとが観測される。それより、croのどの残基がDNAに結合しているかを明らかにすることができた。またその結合にも塩基配列に特異的なものとそうでないものがあることがわかった。これらをもとにしてcroとO_R3の結合モデルを考えることができた。

論文の審査結果の要旨

遺伝子の情報が転写される時、特定の蛋白質が遺伝子の核酸の特定部位に結合して転写活性を制御していることが知られている。その際、蛋白質は塩基配列をどう読みとっているか、更に蛋白質の結合によってDNAの構造に変化がもたらされているか否かは、構造的なレベルではよく知られていない。李尚鍾君はこの問題に核磁気共鳴の手法を用いて挑戦した。

まず、λファージのcroリプレッサーと、それが最も強く結合すると言われている17塩基対のオペレーター部位のDNA O_R3をとりあげ、そのイミノプロトンのシグナルを解析し、各塩基対に帰属した。さらに緩和時間を測定して塩基対開裂の機構を明らかにした。O_R3との結合を調べる対照として、6塩基対部分が共通なφ80のO_R2、共通の塩基配列をもたないものとして、cAMP結合蛋白質の結合部位といわれる22merをとりあげ、それらのDNAとλ-cro蛋白質の結合の様式を調べた。その結果 λ O_R3 - λ - croの組み合せの時、最も強く結合し、DNAは直接結合したところのみでなく、中央部に変形の生じることが明らかにされた。φ80 O_R2との結合では、λ O_R3と共に塩基配列を持つ部分にのみ結合による変形が生じること、CRP22merとは結合しているが、DNAに変形は生じていないことが示された。また、croのアミドプロトンのシグナルを軽水中で測定して、その帰属を行い、DNAを加えた時に特定の残基のシグナルのみが大きくシフトして、DNAとの結合の存在を示した。その中でやはり、塩基配列に特有なものとそうでないものがあることを認め、DNAとの結合様式をリプレッ

サーの側から見ることができた。

以上、李君の論文は、蛋白質が核酸の塩基配列をどのように識別し、結合の結果、どのような構造変化が生じるかを原子レベルで明らかにした点は、顕著な業績であり、理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。