

Title	Solution Structure of the RNP Domains of T-cluster Binding Protein and Their Interaction with the Target DNA
Author(s)	石野, 哲也
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/40831">https://hdl.handle.net/11094/40831</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名	石野哲也
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 13648 号
学位授与年月日	平成10年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科生物化学専攻
学位論文名	Solution Structure of the RNP Domains of T-cluster Binding Protein and Their Interaction with the Target DNA (転写調節因子 T-cluster binding protein の RNP ドメインの溶液構造と核酸相互作用)
論文審査委員	(主査) 教授 京極 好正  (副査) 教授 倉光 成紀 教授 小林 祐次 教授 徳永 史生

#### 論文内容の要旨

血小板第4因子(PF4)は巨核球細胞でのみ特異的に発現し、炎症部位での血液凝固促進する蛋白質である。T-cluster binding protein(TCBP)は、このPF4の発現を転写レベルで制御する因子であり、PF4プロモータ領域に存在するT-clusterエレメント、d(T・A)<sub>26</sub>に結合しPF4遺伝子の発現を抑制していることが知られている。TCBPはアミノ酸265残基よりなり、その中にアミノ酸100残基よりなる2つのRNP(ribonucleo particle)ドメインをタンデムに2つ有している。RNPドメインはRNA結合蛋白質に数多く見出されたモチーフであるが、近年幾つかの転写に関与するDNA結合蛋白質にもその存在が認められており、TCBPもその1つであると考えられている。TCBPをはじめ、これらDNA結合蛋白質のほとんどは2本鎖DNAのみならず1本鎖DNAとも結合するという性質を有していることがわかっているが、その機能的な意義はよくわかっていない。本研究では、TCBPのこの特異なDNA認識機構を構造的観点から解明することを目的として以下の研究をおこなった。

各RNPドメイン(以下N末端側をNTD、C末端をCTDと略す)及びそれら両方を含んだフラグメントを大腸菌をもちいて大量調製し、それらの2本鎖DNAと1本鎖DNAとの結合活性について分析用超遠心機をもちいて調べた。その結果、TCBPは標的DNAであるd(T・A)<sub>26</sub>およびd(T)<sub>26</sub>と1対1で結合し、その特異的認識には特にNTDが重要であることがわかった。CTDは1本鎖d(T)<sub>26</sub>にのみ結合活性を示し2本鎖DNAには全く結合しなかったが、TCBPの高親和性結合にはNTDおよびCTDによる協同的相互作用が重要であることが示唆された。

さらにTCBPのDNA認識機構を原子レベルで理解するために、多次元NMR法によるNTDおよびCTDの立体構造解析およびDNAの滴定実験を行い、DNA相互作用残基を同定した。それらがDNAと相互作用していた領域は主に逆平行βシート構造部分およびβ2-β3ループ部分にマップされた。DNAと相互作用していると考えられる部位には立体構造上近接している芳香族アミノ酸残基のクラスターおよび、これらの残基を取り囲むように点在している塩基性アミノ酸が存在していた。

TCBPはβシート表面を用いてDNAを認識していることが明らかになった。このようなDNAとの相互作用様式は既に立体構造が明らかになっている転写調節因子であるTATA-binding proteinやY-box結合蛋白質CspBにも観察されている。これら三つのDNA結合蛋白質の立体構造は、βシート部分の配置およびβシート表面に位置する芳香族側鎖の空間的配置に類似性を有していた。

## 論文審査の結果の要旨

石野哲也君は、血小板第4因子遺伝子の転写因子であるTクラスター結合蛋白質中のDNA認識部位にある2個のRNPドメインの立体構造を核磁気共鳴法で明らかにした。さらにTクラスター部位への結合様式を、その構造と沈降平衡にもとづいて解明した。そもそもRNA結合ドメインとして知られているRNPドメインが1本鎖、2本鎖DNAに結合することを構造的に明らかにしたことは、博士(理学)の学位論文として十分価値あるものと認める。