



Title	Interaction of Carboxyl-terminal Domain of the Escherichia Coli RNA Polymerase α Subunit with the UP Element DNA Which Contributes to Transcriptional Activation
Author(s)	安野, 和浩
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41592
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 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

氏名	安野和浩
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第14419号
学位授与年月日	平成11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	Interaction of Carboxyl-terminal Domain of the <i>Escherichia coli</i> RNA Polymerase α Subunit with the UP Element DNA Which Contributes to Transcriptional Activation (大腸菌 RNA ポリメラーゼ α サブユニット C 端ドメインと転写活性化能を持つ UP エlement DNA との相互作用)
論文審査委員	(主査) 教授 京極 好正 (副査) 教授 田嶋 正二 教授 後藤 祐児

論文内容の要旨

UP エlement は転写開始点より上流 -40~-60 に位置する AT リッチな配列で、大腸菌 RNA ポリメラーゼ α サブユニット C 端ドメイン (α CTD) がこの配列と相互作用することにより著しい転写活性化をもたらされることが知られている。よって、この相互作用は一つの蛋白質-DNA 相互作用として、さらに転写活性化に寄与する相互作用としても興味あるものである。本研究ではこの α CTD-UP エlement の相互作用を NMR を用いて詳細に解析した。

天然に存在する UP エlement 配列をもとに、幾つかの DNA オリゴマーを設計し、HSQC スペクトル上で、DNA 滴定による α CTD アミドプロトンシグナルのシフトの様子を解析した。その結果 α CTD と UP エlement との相互作用は、解離定数として 10^{-4} M オーダーと蛋白質-DNA 相互作用としては弱い結合であり、その他の DNA と比較しても、あまり結合力に差のない半特異的相互作用であることがわかった。さらに、 α CTD の DNA 結合は DNA 自体が持つ曲がりの度合いに依存しており、配列そのものには大きな影響を受けなかったことから、 α CTD は DNA の曲がりにより誘起される骨格構造を認識していることが示唆された。

α CTD の DNA groove 選択性を調べるため DNA 結合薬物による結合阻害実験を行った。結合の様子は α CTD の分子拡散係数を NMR により測定することで調べた。その結果、 α CTD-DNA 結合は minor groove binder には阻害されるが、major groove binder からは全く阻害されず、 α CTD は DNA の minor groove 側へ結合していることがわかった。

二者の相互作用様式をさらに詳細に解析するため、同位体フィルター法を用いて、分子間 NOE を測定した。その結果は半特異的相互作用の性質を反映するものであり、NOE は DNA の骨格部に多く観測された。NOE 情報と、 α CTD 主鎖アミドプロトンのシフトを参考に、 α CTD-UP エlement DNA 複合体のモデリングを試みた結果、必須残基の幾つかを minor groove へ挿入し、その他の塩基性、極性残基が DNA 骨格へ結合しているモデルが得られた。 α CTD は UP エlement 配列に多くある AT 湾曲配列の特徴である minor groove の幅の狭さを認識しているのではないかと考えている。

RNA ポリメラーゼはプロモーターを認識する必要があるが、同時に転写を進めるためにはそこから離れる必要がある。 α CTD-UP エlement 相互作用に見られるような比較的弱く半特異的な相互作用は、転写因子として付加的に転写開始へ寄与する相互作用として適していると考えられる。このような相互作用を実現するために α CTD は

DNA の比較的特徴のないとされる minor groove 側から, DNA 骨格構造の認識を相互作用様式として採用していると考えられる。

論文審査の結果の要旨

安野和浩君は, 大腸菌 RNA ポリメラーゼ α サブユニットの C 末端ドメイン (α CTD) が, プロモーター上流に位置する AT 含量の高い, いわゆる UP エlement と相互作用して, 転写を活性化する事実に着目し, α CTD と UP エlement DNA との相互作用様式を, NMR を中心とした各手法で詳細に調べ, それらの結果にもとづいて, 結合モデルを提出した。この結果は, いわゆるシス因子による転写活性化の機構を明らかにした点で, 博士 (理学) の学位論文として十分価値あるものと認める。