OUKA
Osaka University Knowledge Archive

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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	安野和浩（やすのかずひろ）
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 *Escherichia coli* 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エレメント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エレメント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（αCTD）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が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αCTD-UPエレメントの相互作用をNMRを用いて詳細に解析した。

天然に存在するUPエレメント配列をもとに，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αCTD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αCTDとUPエレメントとの相互作用は，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，αCTD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，αCTD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。

αCTD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αCTD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，αCTD-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，αCTD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，αCTD主鎖アミドプロトンのシフトを参考に，αCTD-UPエレメント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。αCTDはUPエレメント配列に多くある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。αCTD-UPエレメント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αCTD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（αCTD）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エレメントと相互作用して，転写を活性化する事実に着目し，αCTDとUPエレメント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。