Osaka University Knowledge Archive

Title	Study on the structures, dynamics, and interactions of proteins using NMR spectroscopy
Author(s)	海江田, 修至
Citation	大阪大学, 2011, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/58499
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

【86】

氏　　名	海江田　修　至（かいえだ　しゅうじ）
博士の専攻分野の名称	博　士（理　学）
学　位　記　番　号	第　２４６９０　号
学位授与年月日	平成 23 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当 生命機能研究科生命機能専攻
学　位　論　文　名	Study on the structures, dynamics, and interactions of proteins using NMR spectroscopy （核磁気共鳴による蛋白質の構造、ダイナミクス、及び相互作用の研究）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　中村　春木 （副査） 教　授　難波　啓一　　教　授　高木　淳一　　准教授　池上　貴久

論文内容の要旨

NMR spectroscopy provides a wealth of information on the characteristics of proteins. In this study, I present investigations into protein–ligand interactions, the structure of a protein–ligand complex, and protein dynamics using solution NMR. I examined the interactions of the SH3 domains of development- and differentiation-enhancing factors (DDEFs) with the functionally important elements, known as the SAMP motifs, of the adenomatous polyposis coli (APC) tumour suppressor. The results of chemical shift perturbation experiments showed that the associations of DDEFs with the SAMP motifs, which lack the canonical SH3-binding sequence PxxP, were specific and selective among SH3 domains. I then investigated into the structure of the complex between DDEF1-SH3 and APC-SAMP. Since the affinity of the interaction was not sufficiently high leading to disappearance of a set of NMR signals, especially of those derived from the nuclei at or close to the interaction interface, a fusion protein of the domain and the motif was employed so as to enhance the apparent affinity. The resultant structure displayed that the APC-SAMP motif folded into a polyproline type-II helix, the structure the conventional PxxP motifs take when they interact with their specifically associating SH3 domains. Since the affinity of most of biomolecular interactions is lower than necessary for the structure determination in solution, this study sheds light on the potential of a fusion protein as a tool to surmount the technical difficulty. I also surveyed the dynamics of the aromatic side chains in DDEF1-SH3 using various spin relaxation rates of aromatic ^{13}C nuclei. The particular interest of the study was to assess usefulness of the cross-correlated relaxation (CCR) rates. The results showed that the transverse CCR rate of aromatic carbons lead to reliable extraction of the dynamical parameters of the aromatic heteronuclei. Overall, this work provides useful insights into the strategies to investigate into the structures of biomolecular complexes and into the dynamics of aromatic side chains using NMR spectroscopy.

論文審査の結果の要旨

申請者は、腫瘍抑制因子 APC の機能に重要な役割を持つ SAMP モチーフと、その相互作用相手である DDEF1-SH3ドメインとの複合体の立体構造を、溶液 NMR を用いて決定した。SH3 ドメインはプロリンリッチな PxxP モチーフと呼ばれる配列をリガンドとすることがよく知られているが、SAMP モチーフには、PxxP に相当する配列は含まれていなかった。決定された複合体の立体構造から、SAMP モチーフは、PxxP モチーフと同様の構造を形成する事が明らかとなり、SH3 ドメインのリガンド認識機構に関して新たな洞察を得られた。複合体の構造決定に於いては技術的に困難な面があるが、申請者はこの問題の解決方法を提示した。

また、申請者は、NMR を用いて蛋白質中の芳香属側鎖のダイナミクス解析を行った。これまで、芳香属側鎖のダイナミクス解析は広範に行われていなかったが、申請者の提案した手法を用いることで、様々な蛋白質に於いて側鎖のダイナミクス解析が可能になると考えられる。

以上の結果より、申請者は博士学位に値するものと認める。