

(続紙 1)

京都大学	博士 (エネルギー科学)	氏名	岩岡 諒
論文題目	Structural basis for translational regulation by RNA-binding protein Musashi-1 (RNA 結合タンパク質 Musashi-1 による翻訳制御の構造基盤)		
(論文内容の要旨)			
<p>本論文は、タンパク質の生合成を翻訳過程において制御する Musashi-1 タンパク質に関し、その標的 RNA 及び標的タンパク質との相互作用様式を立体構造の解析に基づいて決定し、翻訳を制御するメカニズムを解明した結果をまとめたもので、7 章からなっている。</p> <p>第 1 章は序論で、研究対象の Musashi-1 が、数多くの標的タンパク質の遺伝子の mRNA の 3'非翻訳領域にある結合配列に特異的に結合し、同領域に結合している翻訳に必須な別のタンパク質 PABP と相互作用して PABP の本来の働きを阻害する事で、標的タンパク質の翻訳を阻害する事を説明している。その上で Musashi-1 が 3'非翻訳領域に存在する特定の配列の RNA に特異的に結合するメカニズム及び Musashi-1 が PABP と相互作用する様式を、NMR 法を用いた立体構造の解析に基づいて明らかにする事で、Musashi-1 が特定のタンパク質の生合成を制御する仕組みを解明するという本論文の目的を述べている。</p> <p>第 2 章では、Musashi-1 は二つの RNA 結合ドメイン(RBD1、RBD2)を有するが、二つ目の RBD (RBD2)について、RBD2 単独の状態及び標的 RNA である GUAGU との複合体の状態に関して、NMR の ^1H、^{13}C、^{15}N 各共鳴線の帰属を他核多次元 NMR 法によって行う手法を説明し、実践している。同手法によって、主鎖及び側鎖のほとんどの共鳴線の帰属を完了する事に成功した。</p> <p>第 3 章では、2 章で完了した共鳴線の帰属を活用して NMR 法によって得られた RBD2 の立体構造に関する距離情報、角度情報及び水素結合情報に基づいて、RBD2 の溶液中における立体構造を決定した。RBD2 は β (シート)α (ヘリックス)$\beta \beta \alpha \beta' \beta$ のフォールドを有する事が示された。</p> <p>第 4 章では、RBD2 と標的 RNA である GUAGU との複合体に関して、NMR 法によって得られた距離情報(分子間距離情報を含む)、角度情報及び水素結合情報に基づいて、溶液中における立体構造を決定した。RBD2 は複合体においても $\beta \alpha \beta \beta \alpha \beta' \beta$ のフォールドを維持している事が分かった。RBD2 が GUAGU 中の UAG 配列を、水素結合、スタッキング相互作用、静電相互作用、疎水性相互作用によって特異的に認識している事が分かった。RBD2 の C 端領域は、RBD2 単独の際には特定の構造を形成せずにふらついているが、RNA との複合体においてはふらつきが抑えられ RNA の認識に関与している事が分かった。先行研究において RBD1 と RNA の複合体の構造が決定されているが、C 端領域が分子認識に関与している事が見出されたのは、RBD2 においてのみである。</p>			

第 5 章では、Musashi-1 の二つの RNA 結合ドメインが、同タンパク質の最小標的 RNA 配列である UAGGUAG を特異的に認識する際の立体構造のモデルを構築した。今回決定した RBD2 と GUAGU の複合体の立体構造、先行研究における RBD1 と GUAGU の複合体の立体構造、及びプロテインデータベースにおける類似のアミノ酸配列を有するタンパク質と RNA の複合体の構造に基づいて初期構造を構築し、AMBER を用いたエネルギー最小化計算を行う事で、Musashi-1 と UAGGUAG の複合体のモデルを得た。最小標的 RNA 配列との複合体モデルが得られた事で、Musashi-1 が他の標的 RNA 配列を特異的に認識する仕組みも示唆された。

第 6 章では、Musashi-1 の二つの RNA 結合ドメインの C 端側に位置する部位が、ポリ A 結合タンパク質(PABP)と相互作用する様式を、NMR 法によって決定した。PABP は β シートに富んだ面で 3'非翻訳領域に存在するポリ A 配列の RNA と相互作用する事が知られているが、この面の反対側に位置する α ヘリックスに富んだ面と Musashi-1 は相互作用する事が分かった。PABP の α ヘリックスに富んだ面は、別のタンパク質 eIF4G と相互作用する箇所、この相互作用によって mRNA を環状化し、翻訳を効率的に進行させる。PABP のこの面に Musashi-1 が相互作用する事で、eIF4G との本来の相互作用が阻害され、mRNA が環状化せず、翻訳が抑制されると考えられた。

第 7 章では、Musashi-1 と標的 RNA 及び標的タンパク質との相互作用様式に関して本論文で得られた成果を要約して結論を述べた上で、これらの相互作用を低分子化合物等によって調整する事によって、Musashi-1 が翻訳を通して生合成を制御している多くのタンパク質の発現量を変化させ、様々な生命現象をコントロールできる可能性を指摘している。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

生物は極めて高いエネルギー利用効率を示すが、これは化学反応を触媒する種々の酵素タンパク質に関し、必要な時に必要なものを生合成するシステムを有しているからである。生物におけるタンパク質の生合成の制御を解明する事は、生物を模してバイオマスから高い効率でバイオエネルギーと有用物質を獲得する為の基盤となる。本論文は、タンパク質の生合成を翻訳過程において制御する Musashi-1 タンパク質に関し、その標的 RNA 及び標的タンパク質との相互作用様式を NMR 法を用いた立体構造の解析に基づいて決定し、翻訳を制御するメカニズムを解明した結果をまとめたもので、得られた主な成果は次のとおりである。

1. Musashi-1 の二つある RNA 結合ドメイン(RBD1、RBD2)の内の RBD2 について、単独の状態及び標的 RNA である GUAGU との複合体の状態に関して、NMR の ^1H 、 ^{13}C 、 ^{15}N の各共鳴線の帰属を他核多次元 NMR 法によって完了した。
2. NMR 法によって得られた RBD2 の立体構造に関する距離情報、角度情報及び水素結合情報に基づいて、RBD2 の溶液中における立体構造を決定した。RBD2 は β (シート) α (ヘリックス) β β α β' β のフォールドを有する事が示された。
3. RBD2 と標的 RNA である GUAGU との複合体に関して、溶液中における立体構造を決定した。RBD2 は GUAGU 中の UAG 配列を、水素結合、スタッキング相互作用、静電相互作用、疎水性相互作用によって特異的に認識している事が分かった。RBD2 の C 端領域も RNA の認識に関与している事が分かった。これは RBD1 には見られない点である。また UAG の塩基は、RBD2 が分子表面に形成する溝に相補的な形を形成してはまり込んでいる事も分かり、分子認識における水の並進配置のエントロピーの重要性が示唆された。
4. 決定した RBD2 と GUAGU の複合体の立体構造等とエネルギー最小化計算に基づいて、Musashi-1 の二つの RNA 結合ドメインが、同タンパク質の最小標的 RNA 配列である UAGGUAG を特異的に認識する際の立体構造のモデルを構築した。最小標的 RNA 配列との複合体モデルが得られた事で、Musashi-1 が他の標的 RNA 配列を特異的に認識する仕組みも示唆された。
5. Musashi-1 の二つの RNA 結合ドメインの C 端側に位置する部位が、ポリ A 結合タンパク質(PABP)の α ヘリックスに富んだ面と相互作用する事を、NMR 法によって見出した。この面は PABP が別のタンパク質 eIF4G と相互作用する箇所、この相互作用によって mRNA を環状化し、翻訳を効率的に進行させる。PABP のこの面に Musashi-1 が相互作用する事で、本来の eIF4G との相互作用が阻害され、mRNA が環状化せず、翻訳が抑制されると考えられた。

以上本論文では、Musashi-1 と標的 RNA 及び標的タンパク質との相互作用様式を立体構造の解析に基づいて決定し、Musashi-1 が翻訳を通して多くのタンパク質の生合成を制

御する仕組みを解明した。得られた知見は、バイオエネルギーの効率的な獲得の為の基盤となり、エネルギー科学の研究に寄与するところ大である。よって、本論文は博士（エネルギー科学）の学位論文として価値あるものと認める。また、平成29年8月25日実施した論文内容とそれに関連した試問の結果合格と認めた。

なお、本論文は、京都大学学位規程第14条第2項に該当するものと判断し、公表に際しては、当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。

論文内容の要旨、審査の結果の要旨及び学位論文の全文は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。ただし、特許申請、雑誌掲載等の関係により、要旨を学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 2018年9月28日以降