

京都大学	博士 ( 理学 )	氏名	崔 錫宇
論文題目	<p style="text-align: center;">Studies on the reaction dynamics of structural and intermolecular interaction changes during signal transduction of the photosensor protein YtvA</p> <p style="text-align: center;">(光センサータンパク質 YtvA のシグナル伝達過程における構造および分子間相互作用変化の反応ダイナミクスに関する研究)</p>		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>生物は、外部からの光、熱などの環境ストレスを感知して身を守るストレス応答システムを持ち、環境に適応・進化し続けている。こうした外部刺激は、センサータンパク質により感知され、タンパク質の構造変化や分子内または分子間相互作用変化などを介して下流へとシグナルを伝達、機能に至る。こうした機能発現の分子機構については、特に光シグナル伝達過程に関して先端的な分光手法での研究が進みつつあるが、まだ反応ダイナミクスに関しては未知な部分が多い。本研究では、枯草菌から発見された、光受容ドメインLOVを持つ青色光センサータンパク質YtvAを対象に、光シグナル伝達過程における反応ダイナミクスを、過渡回折格子 (TG) 法を用いて明らかにしている。</p> <p>YtvAのLOVドメインの両末端に付随しているヘリックスA'αとJαの光励起による構造変化を調べるため、A'αとJαの有無が異なる4種類のサンプルを用いてTG測定を行っている。その結果、両方のヘリックスとも付随していない場合を除き、ヘリックスが1つ以上付随している場合においては光励起による拡散係数 (<i>D</i>) の変化が観測された。この原因としてA'αとJαの回転構造変化が<i>D</i>変化を誘起することを明らかにし、この反応は70 μsより速い時間で独立に起こることを示した。さらに、A'αとJα両方とも付随しているサンプルの場合のみ、光励起により530 μsの時間定数を持つ体積変化反応が観測された。A'αとJα両方が回転することで生じる強いトルクがさらなる体積変化反応を誘起したと考えられ、YtvAの光シグナル伝達過程において重要な反応過程であることが示唆された。</p> <p>ところが、全長YtvAでは光励起による<i>D</i>変化が観測されなかった。その原因としては、全長YtvAのC末端に存在するSTASドメインがJαの動きを抑制したためであると考えられる。しかし、全長の場合においても、体積変化反応が保存されていることが確認された。このことは、全長YtvAでは光励起によるヘリックスの動きが<i>D</i>変化としては観測されないが、ヘリックスの回転を駆動力とした光反応は同様に起こっていることを示唆している。</p> <p>このように、全長YtvAでは光励起による<i>D</i>変化が観測されないが、下流分子の1つであるRsbRAを混合することで大きな<i>D</i>変化が誘起された。これはYtvAとRsbRAが基底状態で互いのSTASドメイン間の相互作用を介して相互作用し、それが光励起で<i>D</i>変化として表れる構造変化を起こしていることの明確な証拠である。また、基底状態ではYtvAダイマーとRsbRAダイマーがヘテロテトラマーを形成していることをゲルろ過法などで確認しており、このヘテロテトラマーの<i>D</i>変化反応が70 μsより速い時間で起こることを示した。</p> <p>以上のように、光励起後に起こるYtvAの分子内およびRsbRAへの分子間シグナル伝達反応ダイナミクスをTG法を用いることで明らかにしている。今回得られた知見は、枯草菌における光シグナル伝達機構の理解に役に立つと考えられる。</p>			

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

本研究は、過渡回折格子 (TG) 法を用いて枯草菌由来の青色光センサータンパク質 YtvA の光反応ダイナミクスを研究したものである。枯草菌における光を含む環境ストレスに対するシグナル伝達反応機構や機能に関しては生理学的な実験などで多く研究されていたが、その反応ダイナミクスに関してはまだ未知なところが多くあった。その中でも、光ストレス応答に關与する YtvA に関して、発色団周りの光反応は吸収変化測定を用いた研究で明らかになっているものの、その反応から誘起されるタンパク質のグローバルな構造変化とそのダイナミクスに関しては測定手法の制限などにより未知のままであった。本研究では、タンパク質の構造変化や分子間相互作用変化の検出、およびそれらの反応ダイナミクス測定に特化している TG 法を用いることで、YtvA 分子内の特徴的なヘリックスの構造変化はもちろん、シグナル伝達過程において下流に存在するタンパク質 RsbRA との分子間相互作用変化ダイナミクスを初めて明らかにすることに成功している。

本研究では、YtvA の光センサードメイン LOV の両末端に付随しているヘリックス A'α と Jα が光励起により独立に回転構造変化を起こすことを示し、また、両方のヘリックスが揃うことで初めて体積変化反応が起こることも示している。このような YtvA の分子内で起こる光反応ダイナミクスの解明は、光遺伝学の発展に対しても重要な役割をすると期待される。例えば、YtvA の A'α と Jα を含む LOV ドメインを用いた人工タンパク質である YF1 の研究に大きく役立つことが期待される。

また、YtvA からの光シグナルがさらに下流へと伝達される反応を調べるため、下流分子の1つである相互作用タンパク質 RsbRA に注目し、YtvA との混合溶液の TG 測定を行うことで YtvA から RsbRA への分子間シグナル伝達反応についても研究している。こうした測定によって、YtvA ダイマーと RsbRA ダイマーが基底状態で相互作用し、光励起により拡散係数変化を伴う反応を起こすヘテロテトラマーを形成することを示している。このヘテロテトラマーの形成には、お互いの C 末端に位置する STAS ドメイン間の相互作用が大きく働いていることも示している。単離した YtvA と RsbRA が直接分子間相互作用することは初めての発見でもある。

本研究は、YtvA の切断タンパク質や全長タンパク質、さらに下流分子の RsbRA を用いた TG 測定により、YtvA が感知した光シグナルの分子内および分子間伝達反応を明らかにしたものである。こうした反応ダイナミクスの研究は生体分子の信号伝達過程の解明に不可欠であり、本研究はこの点で有意義なものであると判断できる。よって、本論文は博士 (理学) の学位論文として価値あるものと認める。また、令和3年1月20日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。

要旨公表可能日：                      年                      月                      日以降