

学位論文要旨

Studies on the functional roles of structural dynamics mediated by intrinsically disordered proteins (天然変性タンパク質による構造動態の機能上の役割の研究)

広島大学大学院 理学研究科 数理分子生命理学専攻
氏名 川寄 亮祐

序文 細胞の主な構成物であるタンパク質は、個々が多種多様な機能を発現することで生理現象を維持している。多くのタンパク質機能の分子機構は、タンパク質が持つ立体構造を解析することで解き明かされてきた。そのため、構成単位であるアミノ酸配列により規定されるタンパク質の立体構造が、機能発現に大きく寄与していることは明白である。一方で、ヒト細胞に含まれるタンパク質の50%以上が安定な立体構造を保持しない、もしくはそのような領域を含むことが明らかになっている。天然変性タンパク質(IDP)、天然変性領域(IDR)と呼ばれるそのようなタンパク質(領域)の中には、細胞機能の仲介を担うものや、病理に直接関与するものが報告されている。つまり、特定の立体構造形成を伴わず生体内機能発現やその制御を行うことを示しており、その機能解明のための研究が多く行われている。

IDP, IDR は、安定な立体構造を持たないという特徴から、構造を持つ領域と比べて大きな構造動態を持つ。この構造動態を介したタンパク質間相互作用の向上メカニズムなども報告されていることから、IDP, IDR は、構造を持たないことで得られる構造動態が機能に関わることを示している。しかし IDP, IDR の構造動態がどのような機能上の役割を持つのかは、十分理解されていない。

そこで私は IDP, IDR が持つ構造動態が、機能やその制御にどう関わるのかを明らかにするために研究を進めた。以下にその研究要旨を記述する。

1章：IDR を介したドメイン間接触による機能ドメイン制御機構の解明

IDR を介したタンパク質機能の制御機構として、マルチドメインタンパク質 Pin1 の研究報告がある。Pin1 は二つの機能ドメインが IDR で繋がった構造を持つため、個々のドメインの相対配向位置は決まっていない。これまでにドメイン同士が特定の部位で接触することで酵素ドメインの活性制御が行われていることが報告されたが、原子レベルでの制御機構は明白でなかった。そこで酵素ドメイン中の接触部位に位置するアミノ酸の一残基変異を導入した Pin1 フラグメントにてドメイン間接触を模倣し、NMR 測定を行った結果、活性部位でドメイン接触による変化と同様の構造変化を観測し、その変化により酵素活性に重要な水素結合が強化されることを明らかにした。これにより、IDR で繋がれたドメインの接触頻度の制御が、アロステリックに機能ドメインの制御をすることが明らかになった。IDR を介したドメイン間の動態がタンパク質機能制御に関わることを示す成果と言える。

2章：IDR を介したドメイン協調機構の解明

上記とは別に、ドメイン接触に依存しない基質認識機構の存在が報告されている。仮説として、IDR により繋がれた二つのドメインがダイナミックに動き、協調する機構が考えられる。そこで、実際にドメイン間の協調を利用した基質認識機構が存在するか、またその機構の詳細を解明するために、Pin1 に対して生理的な基質よりも高い親和性を持つよう設計された二価型リガンドを用いて、親和性向上を担う構造動態変化の解析を試みた。その結果、二価型リガンドは単なる結合解離ではなく、ドメイン間を移行することで通常よりも高い親和性を得ていることを見出した。二価型リガンドの結合サイト間の距離が変わると、親和性も変化することから、IDR によってもたらされる二つのドメインのダイナミックな動きが、基質結合特異性を制御していることが示唆される。ドメイン間を繋ぐ IDR が、単純に機能ドメインの空間的近接を維持するだけではなく、より積極的に空間配置を制御することでドメイン間の機能協調を促進する機構を明らかにした。

3章：IDP が持つ全体構造のダイナミクス変化

IDR による構造動態が構造ドメインの機能を制御する一方で、生体内にはすべての領域で構造を持たないタンパク質 (IDP) が存在する。それらは一残基変異など微細な影響によってその機能に変調をきたす。そこで、微小管形成の安定化などを担う IDP (Tau タンパク質) を対象として、野生型と病原性の一残基変異体の構造動態変化を測定した。その結果局所的な構造動態に変化はないが、全体として変異体ではより引き延ばされた状態を取りやすい傾向にあることを見出した。この変異体は病原性のタンパク質凝集体形成を促進することが報告されているため、この動態変化が凝集体形成促進に関わることが示唆される。これにより、IDR 内での領域間の動態相関の変化が、タンパク質間凝集過程に関与することを示した。安定な構造を持たないタンパク質が持つ構造動態の不均一性がタンパク質の物性を制御するという知見を与える。

結論 従来の常識では想定されなかった IDR が持つ新たな機能制御機構・物性制御機構を解明した。

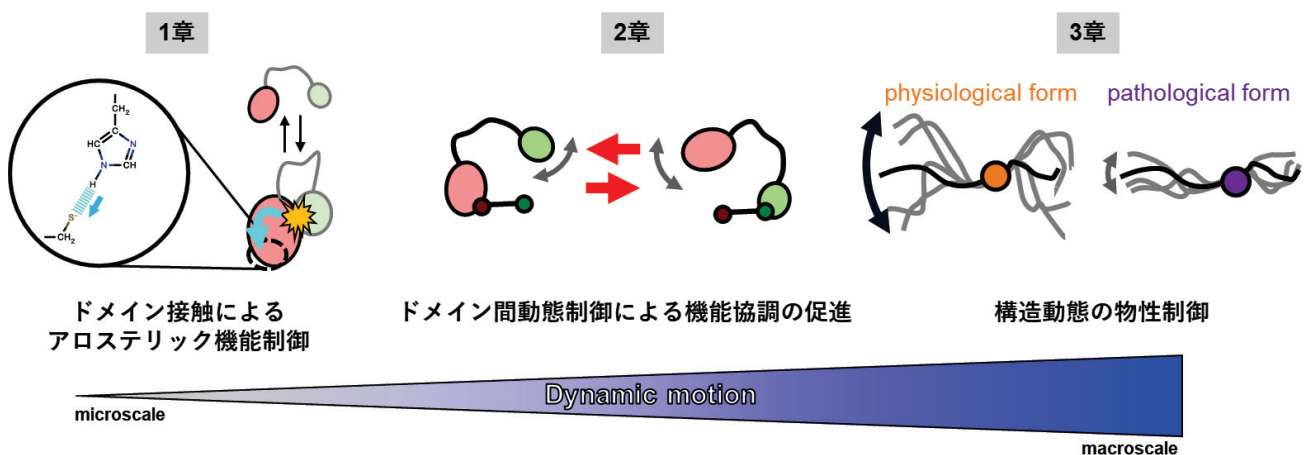


図 1：各章で明らかにした IDP, IDR による新たな機能制御機構・物性制御機構