

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)	氏名	青木 大将
学位授与の要件	学位規則第4条第①・2項該当		
論文題目			
Phosphorylation-dependent regulation mechanism of the nucleosome reorganization by a histone chaperone, FACT (ヒストンシャペロンFACTのリン酸化依存的なヌクレオソーム再構成制御機構の解明)			
論文審査担当者			
主 査	教授	楯 真一	
審査委員	教授	泉 俊輔	
審査委員	教授	中田 聡	
審査委員	准教授	栗津 暁紀	
審査委員	チーフリーダー	梅原 崇史 (理化学研究所・生命機能科学研究センター)	
〔論文審査の要旨〕			
<p>本学位論文は、安定な立体構造を持たないタンパク質の領域である天然変性領域がもつ新しい機能を発見し、その機能制御機構を分子科学的に明らかにした。安定なタンパク質構造を保持する領域が発現できない新たな機能を、天然変性領域が持つことを明らかにした本研究のタンパク質科学における意義は高い。</p> <p>タンパク質構造生物学は、安定な立体構造を持つタンパク質の高分解能立体構造解析を基にして発展してきた。しかし、ヒト・ゲノム配列解析の結果は、ヒトが持つタンパク質の50%は安定な立体構造を保持しない天然変性領域であること示し、タンパク質構造生物が構築してきたタンパク質の立体構造と機能との相関という概念が、タンパク質の機能を理解する上での半分の事実でしかなかったということが明らかになった。このためヒトゲノムプロジェクトの終了後、タンパク質科学は天然変性領域が持つ機能の解明に研究の焦点が徐々に移ってきてきた。実際に天然変性領域の研究を通して、安定な立体構造を持つタンパク質では観測されなかった様々な新しい機能が見つかり、タンパク質の持つ役割の多様性がさらに広がってきた。50年以上の研究の歴史があり研究手法としても固まっているタンパク質の立体構造解析と異なり、天然変性領域の研究は解明する現象に応じて異なる研究手法を工夫する必要がある。このため、タンパク質立体構造解析が網羅的に行われたようには、天然変性領域の研究はできない。したがって、天然変性領域の研究には、様々な研究手法の駆使や開発の必要がある。</p> <p>本研究のテーマは、細胞の核内にDNAを格納するために存在するヌクレオソームと呼ばれるタンパク質-DNA複合体の構造形成および構造破壊の双方に関わるFACTと呼ばれるタンパク質を対象とした。著者の属する研究室では、FACTのヌクレオソーム結合ドメインが天然変性領域を保持しており、この天然変性領域に対する細胞内でのリン酸化がFACTのヌクレオソーム結合能を制御していることを報告している。また興味深いことに、FACTのヌクレオソームに対する結合能の変化は、リン酸化の程度に応じてシグモイダルに変化する特徴がある。</p>			

本学位論文では、FACT のヌクレオソーム結合能の変化を「超高感度応答性」と呼んだ。

NMR を駆使した解析から、超感度応答性を担う天然変性領域は、この領域に対するリン酸化の程度に応じて天然変性領域内での相互作用が変化することが明らかとなった。すなわち、リン酸化に応じて、FACT のヌクレオソーム領域内での分子内相互作用が変化することが分かった。NMR の解析からは、柔軟なヒモである天然変性領域がリン酸化された状態では、折れたたまった様な構造をとることが示された。

次に、粗視化分子動力学シミュレーションを使い、リン酸化の程度に応じて天然変性領域内での相互作用の変化と、ヌクレオソーム結合能との関係を解析した。ヌクレオソーム結合ドメインを形成する天然変性領域は、N末端部に酸性アミノ酸残基が多く存在し、C末端部は塩基性アミノ酸残基が多く存在する特徴がある。酸性アミノ酸に富んだN末端部とC末端部を繋ぐ境界領域には Gly が 4 残基並んだ特異な配列がある。側鎖がHのみである Gly が並ぶ配列は骨格構造に高い柔軟性をもつ。そこで私達は、この配列がN末端部とC末端部の間のヒンジとして働く領域だと仮定して粗視化分子動力学計算を行った。その結果、Gly に富んだ領域がヒンジとして機能することによりリン酸化に応じたヌクレオソーム結合能のシグモイダルな変化が再現できることを見いだした。実際に、Gly に富んだ領域がヒンジとして機能しない場合には実験で観測されたようなシグモイダルな結合能変化は再現できなかった。

以上 NMR と粗視化分子動力学シミュレーションを併用することにより、リン酸化の程度に依存した FACT のヌクレオソーム結合能における「超高感度応答性」の分子機構を明らかにすることができた。

上記に加えて、NMR 構造解析の結果からは、リン酸化の程度に応じて天然変性領域のC末端部に存在する HMG ドメインという異常構造 DNA に高い親和性を持つドメインに対する分子内の相互作用様式も変化することを明らかにした。すなわち、リン酸化の程度が低い時には、HMG ドメインはN末端部にある天然領域と相互作用しており、自己阻害的に HMG の結合を抑制するが、リン酸化の程度が進むと HMG に対する分子内相互作用はなくなり、HMG が溶液に露出する構造となる。このことから、リン酸化の程度が低い時には、FACT は正常なヌクレオソームに結合してヌクレオソーム構造破壊の機能を持つが、一方でリン酸化が進んだ状態では、HMG を介して異常構造 DNA を持つ構造が壊れたヌクレオソームと結合することで、逆にシャペロンとして機能できる機能スイッチを実現していることが示唆できる。

以上の解析を通して、FACT がリン酸化の程度に応じてヌクレオソームに対する結合能を変化させる「超高感度応答性」の分子機構を明らかにした。さらに、FACT が、ヌクレオソーム形成と、ヌクレオソーム破壊という 2 つの異なる機能を持ちながら、その機能をリン酸化に程度に応じてスイッチするという新たな機構についても明らかにした。いずれも、天然変性領域であるからこそ実現できる機構である。

以上、本研究は、タンパク質科学に新たな知見を加えるものであり、審査の結果、本論文著者である青木大將は、博士（理学）の学位を授与される十分な資格があるものと認める。

公表論文

1. Daisuke Aoki, Akinori Awazu, Masashi Fujii, Jun-ichi Uewaki, Manami Hashimoto, Naoya Tochio, Takashi Umehara, and Shin-ichi Tate, “Ultrasensitive change in nucleosome binding by multiple phosphorylation to the intrinsically disordered region of the histone chaperone FACT”, *J. Mol. Biol.* 432, 4637-4657 (2020).