HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Functional Characterization of Heme Binding in DNA Binding Proteins [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	南, 多娟
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(理学)
Dissertation Number	甲第14310号
Issue Date	2020-12-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/80260
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Dayeon_NAM_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称　博士（理学）　氏名　南　多娟

審査担当者

主査	教授	村上 洋太
副査	教授	佐田 和己
副査	教授	渡慶次 学
副査	教授	石森 浩一郎
副査	教授	上野 貢生
副査	准教授	内田 毅

学 位 論 文 題 名

Functional Characterization of Heme Binding in DNA Binding Proteins
（DNA 結合タンパク質におけるヘム結合の機能解析）

本論文は生体内における多くの鉄含有蛋白質の活性中心として機能している鉄—ポルフィリン錯体、ヘム、をシグナル伝達分子として結合する蛋白質のうち、ヘムにより標的 DNA への結合が制御される蛋白質の機能発現機構を分子構造に基づきその解明を目指したもので、四章から成る。

第一章では、生体内におけるシグナル伝達分子としてのヘムに関するこれまでの研究成果と、その課題についてまとめ、細胞内において二重鎖あるいは一本鎖の DNA に結合することで転写や DNA 複製過程を制御する Iron response regulator (Irr) 及び Cold shock protein D(CspD) に着目した理由について述べている。

第二章では、細胞内においてヘムの生合成過程を制御する転写因子 Irr におけるヘム結合の機能的意義について検討している。Irr は、細胞内鉄量が高くなるとヘムを結合し、自己分解を起こすことで、ヘム生合成系酵素の抑制的転写制御が解消され、ヘム生合成が進行すると想定されているが、その分子機構は明らかではなかった。そこで、蛍光分子を修飾させた標的 DNA を Irr に結合させ、ヘムの添加による蛍光異方性変化を追跡した結果、ヘムの結合は酸化修飾を引き起こすことなく Irr を標的 DNA から解離させることが明らかとなった。さらに、誘導結合プラズマ発光分析から、ヘムの添加に伴い、Irr からその ICE 結合に必須な Mn^{2+} の解離を観測している。この Mn^{2+} の結合部位はヘムの結合部位でもあるヒスチジン残基が集中した“His-cluster”領域であることから、ヘムは Irr への結合により Mn^{2+} を解離させることで、その自己分解を誘起することなく転写抑制機能を解除し、ヘム生合成を促進させる制御分子であることを結論づけている。

一方、第三章では、金属代謝とは全く関係がないにもかかわらず、ヘム結合配列である Heme regulatory motif (HRM) 配列を有し、DNA 複製フォークにおける一本鎖 DNA 領域に結合してその複製を阻害すると想定されている CspD に注目している。本章では一本鎖 DNA のモデル基質として、合成一本鎖 DNA オリゴマー（ssDNA）用い、その CspD への結合を Trp の蛍光消光を利用することで追跡した。その結果、ssDNA の結合による Trp の蛍光消光は、ヘム存在下では抑制され、ヘム添加により CspD の ssDNA への結合は阻害されることが示された。このような蛍光消光の抑制は、HRM に位置する Cys22 を変異することで消失することから、CspD は Cys22 へのヘムの結合により ssDNA への結合能を失うことを示している。以上の結果から、ヘムは金属代謝とは関係のない DNA 複製においても制御分子として機能することを提案している。

第四章では、本学位論文で得られた結果を総括し、細胞内の多様な制御過程におけるヘムの制御分子としての生物学的意義と残された課題、さらに今後の展望についてまとめられている。以上のような内容の一部は，米国生化学会発行の査読付学術誌である Journal of Biochemical Chemistry 誌に掲載されており，本論文において得られた結果は，細胞内におけるヘムのシグナル分子としての機能を詳細に明らかにするとともに、金属関連の代謝以外の制御系におけるヘムのより普遍的な細胞内シグナル分子としての機能を強く示唆するもので学術的にも重要な意義を有し、生体内シグナル伝達機構についても新たな展開をもたらす可能性があることから，博士（理学）の授与に値すると判断する。