

# 論文審査の結果の要旨

氏名 嶋田 睦

アミノアシル tRNA 合成酵素 (aaRS) は、アミノ酸と tRNA とを ATP を利用して結合する酵素であり、正確な遺伝情報の翻訳には、aaRS がアミノ酸と tRNA を厳密に認識することが必須の役割を果たしている。aaRS は正しい tRNA を識別するため、アイデンティティー決定因子と呼ばれる tRNA 上の特定のヌクレオチド残基を認識してその tRNA をアミノアシル化する。

本論文では、構造未知のアルギニル tRNA 合成酵素 (ArgRS) の X 線結晶構造解析と変異体解析を行い、ArgRS による tRNA<sup>Arg</sup> の主要アイデンティティー決定因子 A20 の認識機構の研究を行っている。

本論文の第 2 章では、高度好熱菌 ArgRS 遺伝子のクローニングと高度好熱菌 ArgRS の X 線結晶構造解析について述べられている。高度好熱菌 ArgRS 遺伝子をクローニングし、クローニングした ArgRS 遺伝子を大腸菌で発現させ、精製した組み換え ArgRS を用いて結晶化を行い、高分解能結晶の作製に成功している。作製した高分解能結晶を使用し、重原子同型置換法により高度好熱菌 ArgRS の結晶構造を最終的に 2.3 Å 分解能で決定している。ArgRS の全体構造は、主に以下の 6 つのドメインから構成されていた。すなわち、Rossmann-fold ドメイン、 $\alpha$ -helix bundle ドメイン、small helical ドメイン、connective polypeptide (CP) コア、stem-contact (SC) fold ドメイン、N 末端ドメインである。このうち Rossmann-fold ドメインはクラス I aaRS に共通のドメインであり、 $\alpha$ -helix bundle ドメインと small helical ドメインはサブクラス Ia aaRS に共通の、connective

polypeptide (CP) コアと stem-contact (SC) fold ドメインはサブクラス Ia, Ib に共通のドメインである。N 末端ドメインは ArgRS だけが持つドメインである。

ArgRS のサブクラスは一次構造からは不明であったが、ArgRS がサブクラス Ia aaRS に共通の  $\alpha$ -helix bundle ドメインを保持するなどの立体構造上の特徴から、ArgRS がサブクラス Ia に属することを明らかにしている。また他のクラス I aaRS との詳細な高次構造の比較により、サブクラス Ia と Ib に共通のドメインが明らかにされ、これらのサブクラスに共通の反応機構が考察されている。

tRNA との複合体の結晶構造が知られている、他のクラス I aaRS との比較により、ArgRS と tRNA の結合モデルを提示している。結合モデルに基づき、tRNA<sup>Arg</sup> の主要アイデンティティ決定因子である A20 と C35 を認識するドメインが示されている。すなわち、ArgRS の N 末端ドメインが tRNA の D ループの A20 を、 $\alpha$ -helix bundle ドメインがアンチコドンの C35 をそれぞれ認識することが示されている。結合モデルにおいて A20 や C35 の近傍には、保存アミノ酸残基が集中していることが示されている。

本論文の第 3 章では、A20 の認識に関与すると推測される保存アミノ酸残基に変異を持つ ArgRS 変異体の反応速度論的解析について述べられている。ArgRS の N 末端ドメイン上の 2 つの保存残基、Tyr-77 と Asn-79 に変異を持つ変異体 ArgRS が調製され、A20, G20, C20, U20 をそれぞれ持つ tRNA<sup>Arg</sup> バリエーションに対するアルギニル化の効率が測定されている。変異体解析の結果から、Tyr-77 はスタッキング相互作用により A20 の認識に関与していることが示唆されている。Asn-79 のいくつかの変異体は、野生型 ArgRS はアルギニル化しな

い G20 や U20 を持つ tRNA<sup>Arg</sup> バリエントをアルギニル化することを明らかにしている。変異体解析の結果と矛盾しない Tyr-77 と Asn-79 による A20 の認識モデルが ArgRS の立体構造上に構築可能であることが提示されている。

なお、本論文第 2 章の前半は、東京大学の横山茂之教授、濡木理博士、理化学研究所の瀧尾擴士博士、堂前直博士との共同研究であり、第 2 章の後半と第 3 章は、東京大学の横山茂之教授、濡木理博士、日本女子大学の高橋征三教授、五島美絵氏との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析および検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士 (理学) の学位を授与できると認める。