

論文審査の結果の要旨

氏名 北村 彩

グループ I イントロンは初めて発見されたりボザイムであり、セルフスプライシング反応を行う。グループ I イントロンのセルフスプライシング反応は二段階のエステル転移反応からなる。一段階目の反応は、イントロン中に保存されたグアノシン結合部位 (GBS) に、遊離のグアノシンが結合することにより引き起こされる。このエステル転移反応により、5'スプライス部位の切断が起こる。二段階目の反応は、イントロンの3'末端に保存されたグアノシン残基 (ω G) が前述のグアノシンと置き換わり、GBS に結合することにより引き起こされる。このエステル転移反応により、3'スプライス部位が切断され、5'エキソンと3'エキソンが連結する。二段階目のエステル転移反応は、一段階目の反応の逆反応であることから、両段階の反応を引き起こすグアノシン結合の機構も同じであると考えられる。このグアノシン認識の機構については様々な解析が試みられている。Michel ら (1989) は、基質であるグアノシンが、P7 ヘリックス中の G264•C311 塩基対と相互作用することを示した。また、Golden ら (1998) によりグループ I イントロンの GBS を含む領域の X 線結晶構造解析も試みられているが、原子分解能レベルでのグアノシン結合の機構はまだ明らかになっていない。渡部ら (1996) は、二段階目のエステル転移反応時のグアノシン結合部位を再現するようなモデル RNA (P7/P9.0/G) を構築し、変異体の融解温度の比較からこのモデル RNA がグループ I イントロンと同じ基質特異性を保持していることを確かめた。論文提出者は、さらに、原子分解能レベルでのグアノシン結合機構の解明を目的とし、P7/P9.0/G を基に、NMR 法により適した 22 残基のモデル RNA (GBS/ ω G) を構築し、構造を決定した。本論文では、その研

究の成果が述べられている。

本論文は3章からなる。第1章は、研究の背景と概要について述べられている。第2章は、NMR法によるGBS/ ω Gの構造解析の課程、その構造の詳細と、GBS/ ω GとグループIイントロンのグアノシン認識能との関係が述べられている。論文提出者は、GBS/ ω Gとその変異体を化学合成で作成し、その融解温度とNMR解析から、GBS/ ω GがグループIイントロンと同じ基質特異性を保持していることを確かめた。さらに、NMR法により、GBS/ ω Gの構造を決定した。その結果、 ω Gは、G264との間の二つの水素結合により、G264•C311塩基対と三重塩基対を形成することが示された。また、C262が ω Gにスタッキングすることにより、 ω Gの結合を安定化することを示した。バルジであるA263の塩基は、P7ヘリックスのmajor groove側に位置するが、他の残基との相互作用は認められなかった。A263を挟む二つの塩基対(C262•G312, G264•C311)間のtwist angleは大きく、この角度により、 ω GとG•C塩基対との間の三重塩基対の形成と、C262の ω Gに対するスタッキングが同時に存在することが可能になる。論文提出者は、このグアノシン結合部位をBTポケット(Bulge and Twist pocket)と名付けた。また、P7ヘリックスとP9.0ヘリックスの間にある二つの塩基対(G413•C313, C262•G312)間のtwist angleも大きく、この結果、P7とP9.0の間でヘリックスの軸が曲がっていた。論文提出者は、これらのGBS/ ω Gの構造の特徴を、グループIイントロンの変異体解析の結果や、低分解能でのX線結晶構造解析の結果と比較し、GBS/ ω Gが、グループIイントロン中のGBSと同じ構造を保っていることを示した。

第3章では、他のRNA分子中にBTポケットが存在することを確かめた。その結果、グループIイントロン中のGBSと同じくアルギニンを認識するTAR RNAも、GBSのBTポケットと共通の構造をとることを示した。さらに、23S rRNA, 16S rRNA中にもBTポケット様の構造があることを示した。これらのBTポケットは、それぞれ違う三重塩基対の形成によって、ヌクレオチド、あるいはアミノ酸を認識する。これらのBTポケットの例から、BTポケットが、まだ構造が決定されていないRNA分子内にも、BTポケットが存在し、RNA-RNA, あるいはRNA-タンパク質間の相互作用を担っている可能性があることを示し

た。

なお、本論文は、東京大学の横山茂之教授，武藤裕講師，坂本健作助手，渡部暁博士（現・国立がんセンター），金仁実博士（現・Stanford University），伊藤拓宏博士（現・Harvard Medical School），西谷陽一さん（現・協和発酵工業），渡部広綱教授，大槻高史助手，京都大学の井上丹教授，千葉工業大学の高久洋教授，河合剛太助教授，細野和美博士（現・日本酸素），農業生物資源研究所の山崎俊正博士，加藤悦子研究員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。