

論文審査の結果の要旨

氏名 中間 崇

アミノアシル tRNA 合成酵素 (aaRS) はアミノ酸の ATP による活性化と活性化されたアミノ酸の tRNA への転移という 2 段階の反応によってアミノ酸を tRNA に結合させる酵素である。aaRS はタンパク質に含まれる各アミノ酸に対応する形で 20 種類存在し、触媒ドメインの構造によってクラス I (10 種類) とクラス II (10 種類) の 2 つに大別することができる。aaRS はアミノ酸配列上の相同性からさらに 3 つずつのサブクラスに分類することができる (Ia, Ib, Ic および IIa, IIb, IIc)。

aaRS には、複数種存在するアミノ酸あるいは tRNA の中から自らに対応するアミノ酸あるいは tRNA だけを選択することが遺伝情報の正確な発現のために要求されている。論文提出者はクラス Ia に属するイソロイシンとシステインの系に関して基質の認識機構を X 線結晶構造解析を用いて原子レベルの分解能で解明する研究を行った。

本論文は 4 章からなり、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 章ではイソロイシル tRNA 合成酵素 (IleRS) による反応中間体であるイソロイシル AMP (Ile-AMP) アナログおよび真正細菌や古細菌由来の IleRS を選択的に阻害する抗生物質である mupirocin の認識機構について述べられている。論文提出者は *Thermus thermophilus* 由来の IleRS と Ile-AMP アナログの複合体の結晶構造を *T. thermophilus* 由来の IleRS 単独の結晶構造をサーチモデルとした分子置換法で決定した。さらにこの結晶構造を他のクラス I の aaRS とアミノアシル AMP (aa-AMP) の複合体の結晶構造と比較することでクラス I の aaRS による aa-AMP の認識機構にはクラスごと、あるいはサブクラスごとに共通性があることを明らかにしている。また、論文提出者は *T. thermophilus* 由来の IleRS

と mupirocin との複合体の結晶構造を *T. thermophilus* 由来の IleRS 単独の結晶構造をサーチモデルとした分子置換法で決定している。そして、この結晶構造と種々の生物種由来の IleRS のアミノ酸配列のアラインメントから mupirocin に対する IleRS の感受性に影響するアミノ酸残基を推定し、これらのアミノ酸残基を置換した変異体が mupirocin に対する IleRS の感受性を変化させていることを tRNA^{Ile} のアミノアシル化活性の阻害活性を定量化することで明らかにしている。

第 3 章では *T. thermophilus* 由来のシステイニル tRNA 合成酵素 (CysRS) の結晶構造解析について述べられている。論文提出者は *T. thermophilus* 由来の CysRS の結晶構造をセレノメチオニン置換体の多波長異常分散法で決定している。その結果、CysRS には他のクラス I またはクラス Ia の aaRS には存在していなかった固有のドメインが両末端に存在していることを明らかにしている。さらに、論文提出者は CysRS と基質である L-システインおよび tRNA^{Cys} との結合モデルの構築によって CysRS とアミノ酸および tRNA の結合様式を推測している。アミノ酸においては、その結合部位であると考えられるところに亜鉛イオンと思われる金属イオンが結合していることを見だし、その金属イオンが本来の基質である L-システインの認識に関わっている可能性があることを結合モデルの構築によって示している。一方、tRNA においては、CysRS に特徴的な N 末端側の extension がアミノアシル化に重要であるとされる領域の 1 つを認識している可能性があることを結合モデルの構築によって示している。

第 4 章は第 2 章ならびに第 3 章での成果をまとめたものである。

なお、本論文第 2 章は、東京大学の横山茂之教授、濡木理助手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。