

論文審査の結果の要旨

氏名 深井 周也

tRNA のアミノアシル化反応は、タンパク質合成の最初の過程であり、各アミノ酸に対応して存在する 20 種類のアミノアシル tRNA 合成酵素 (aaRS) によって行われる。aaRS は、基質であるアミノ酸および tRNA を厳密に識別することによって、正確なタンパク質合成を保証している。

aaRS は、アミノ酸結合ポケットへの親和性の差によって、アミノ酸を識別する。ところが、大きさの似たアミノ酸同士では、親和性の差が一段階の識別には不十分である。そのため、aaRS のなかには、アミノアシル化反応で誤って生成したアミノアシルアデニル酸、あるいはアミノアシル tRNA (aa-tRNA) を、加水分解によって排除して誤りを訂正する (editing) ものが存在する。アミノアシル化反応と editing での二段階のアミノ酸選択は、「二重ふるい」選択と呼ばれる。バリン tRNA 合成酵素 (ValRS) は、アミノ酸の二重ふるい選択を行う aaRS の一つである。ValRS は、アミノアシル化反応で、バリンとイソロイシンを識別することができるが、同じ大きさのバリンとトレオニンとを識別できない。トレオニンは、editing によって排除される。ValRS と近縁のイソロイシル tRNA 合成酵素 (IleRS) も、アミノ酸の二重ふるい選択を行う。一方、aaRS は、「アイデンティティー決定因子」と呼ばれる特定のヌクレオチド残基を認識して、tRNA を識別する。tRNA^{Val} の主要なアイデンティティー決定因子は、A35 と C36 である。

論文提出者は、高度好熱菌 ValRS•tRNA^{Val}•Val-AMP アナログ (Val-AMS) 複合体の X 線結晶構造解析によって、「アミノ酸の二重ふるい選択機構」と「tRNA^{Val} の識別機構」の研究を行った。本論文では、その研究の成果が述べられている。

本論文は4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、ValRS•tRNA^{Val}•Val-AMS複合体の結晶構造決定までの過程について述べられている。論文提出者は、まず、高度好熱菌ValRS遺伝子の単離を行い、大腸菌を用いた大量発現系を構築した後、発現させたValRS組換え体を結晶化に適する純度に精製している。一方で、*in vitro*でのtRNA^{Val}の大量調製系を構築し、tRNA^{Val}転写物を結晶化に適する純度に精製している。次に、結晶化を試み、ValRS•tRNA^{Val}•Val-AMS複合体の結晶を得た後、PtおよびAuを使った重原子同形置換法によって、ValRS•tRNA^{Val}•Val-AMS複合体の結晶構造を2.9 Å分解能で決定することに成功している。

第3章は、ValRS•tRNA^{Val}•Val-AMS複合体の結晶構造に基づいて、「アミノ酸の二重ふるい選択機構」と「tRNA^{Val}の識別機構」について述べている。決定した結晶構造では、アミノアシル化ドメインにVal-AMSが結合していた。論文提出者は、IleRSと比較することによって、イソロイシンに特徴的なC δ 原子の位置に、ValRSではPro残基の側鎖が突き出してイソロイシンを排除することを示している。一方、editingドメインには、tRNA^{Val}のA76が結合していた。論文提出者は、IleRS•バリン複合体との重ね合わせを行い、Thr-tRNA^{Val}の加水分解の状態のモデルを構築することで、トレオニンとバリンを識別するポケットを同定し、識別機構を示唆している。さらに、IleRSおよびIleRS•tRNA^{Ile}複合体との比較から、アミノ酸の二重ふるい選択の際に、tRNAの3'端周辺の構造だけでなく、editingドメインの配向も変化することを指摘している。一方、tRNAの識別機構に関して、helix bundleドメインによるA35とC36の認識機構を明らかにし、さらに、ValRSに特徴的なC末端の領域がcoiled coilを形成しており、tRNA^{Val}のDおよびT Ψ Cループと相互作用していることを示している。この結果から、論文提出者は、coiled coilドメインが二つのループ同士の相互作用を安定化している可能性を考え、それを示すためにValRSおよびtRNA^{Val}変異体の反応速度論的解析を行っている。その結果は第4章に述べられている。

なお、本論文は、東京大学の横山茂之教授、濡木理助手、嶋田睦博士（現・マ

ックスプランク研究所), 理研播磨研究所の関根俊一研究員, Dmitry G. Vassilyev 副主任研究員, Cubist Pharmaceuticals の Jianshi Tao 博士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。