

論文審査の結果の要旨

氏名 石谷 隆一郎

tRNA 修飾酵素は tRNA に ACGU 以外の修飾塩基を導入する役割を持つ酵素群である。tRNA の修飾はコドン・アンチコドン認識の多様性をもたらすだけでなく、tRNA の折り畳みを助け、構造を安定化させる役割を持っている。これらの tRNA 修飾は、完成した折り畳みである L 字型 tRNA では、高次構造に埋もれたサイトに位置している。そのため、tRNA は何らかの高次構造変化を起こした上で修飾酵素に認識され、修飾されると考えられる。tRNA 修飾酵素、アーケオシン tRNA グアニトランスグリコシラーゼ (ArcTGT) は、tRNA の 15 位に修飾塩基アーケオシンを導入する反応にかかわる酵素である。ArcTGT の標的サイトも他の修飾サイトと同様に tRNA のコア構造に埋もれており、通常の L 字型状態の tRNA では、ArcTGT が標的サイトにアクセスすることが出来ない。そのため ArcTGT は何らかの構造変化を起こした tRNA に結合し、修飾を導入していると推測されるが、どのような構造変化を起こしているかは不明であった。またさらに、ArcTGT はヌクレオチド残基の塩基部分のみをすげ替える「塩基交換反応」という特徴的な反応により、tRNA 15 位グアニル酸残基のグアニンとアーケオシン前駆体 preQ₀ 塩基を入れ替えるが、その機構の詳細は不明であった。論文提出者は、超好熱性古細菌 *Pyrococcus horikoshii* 由来 ArcTGT, ArcTGT・リガンド複合体, ArcTGT・tRNA 複合体の X 線結晶構造解析によって、「tRNA 修飾酵素による構造変化した tRNA の認識機構」と「塩基交換反応の反応機構」に関する研究を行った。本論文では、その研究の成果が述べられている。

本論文は 5 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、ArcTGT 単独の結晶構造決定と、各種リガンド(グアニン, preQ₀,

グアノシン、デオキシグアノシン類似体)との複合体の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、ArcTGTの大量調製と結晶化を行い、さらにセレノメチオニン置換体の大量調製と結晶化、多波長異常分散法による位相決定を行い、分解能 2.2 Åで酵素単独の結晶構造を決定することに成功している。また、ArcTGT・各種リガンドの複合体の結晶構造も、分子置換法により決定している。第3章ではこれらの構造に関する議論が行われている。すなわち、リガンド・フリーArcTGTとリガンドとの複合体の構造を比較し、触媒サイトがリガンドの結合により大きな構造変化を起こすこと等を見出している。

第4章は、ArcTGTとtRNA複合体の構造決定までの過程について述べている。論文提出者は、まず、*P. horikoshii*由来 tRNA^{Val}を試験管内転写反応により大量調製し、ArcTGTと複合体を形成させたうえで結晶化し、さらに分子置換法により位相決定を行い、分解能 3.3 Åで構造決定している。さらに第5章では、ArcTGT・tRNA複合体の結晶構造についてが、議論されている。ArcTGTは大きく構造変化を起こしたtRNAに結合しており、その構造変化したtRNAは、単に変性してしまうのではなく、修飾の標的部分が露出するようにtRNAの2次構造、3次構造が組み変わった「オルタナティブ」なL字型構造をとっていた。さらに、論文提出者は、ArcTGTによる配列非特異的かつ位置特異的なRNAの認識についてもその機構を解明している。一方、これらの認識モデルを検証するための変異体解析も行っており、その結果についても議論されている。

第6章では、本論文で解明された結晶構造に基づき、総合的な議論が展開されている。まず、ArcTGTとリガンド、ArcTGTとtRNAとの複合体の触媒部位の構造から、Asp249残基やAsp95残基の塩基交換反応における役割を議論している。またさらに、論文提出者は、ArcTGTによるtRNA認識機構と、真核生物の核小体において、rRNAやsnRNAの修飾に関わるsnoRNP複合体におけるRNA認識との関連性などについても議論している。また、構造変化したオルタナティブ型tRNAと、ミトコンドリアに存在する異常なDアームを持つtRNAとの関連性についても議論されている。

なお、本論文は、東京大学の横山茂之教授，濡木理助教授，深井周也博士（現スタンフォード大），理研 GSC の行木信一研究員，東工大・生命理工の岡田典弘教授，関根光雄教授，渡邊正勝助手，雉元禎哉君，萬有製薬つくば研究所の西村邁名誉所長，近藤久雄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。