

論文審査の結果の要旨

氏名 上西 達也

リボソームタンパク質 L11 メチル基転移酵素 (PrmA) は、リボソームタンパク質をメチル化する活性が認められている数少ない酵素であり、補酵素 S-adenosyl-L-methionine (AdoMet) をメチル基供与体として、L11 の 3 ケ所のアミノ基にそれぞれトリメチル化を行う。本論文では、高度好熱菌 PrmA の X 線結晶解析を行い、基質である L11 のアミノ基を特異的に認識する機構について、研究を行っている。

第 2 章では、X線結晶解析に用いた高度好熱菌由来 PrmA が、実際に報告がある大腸菌 PrmA と同様に、L11 に対する結合能およびメチル基転移活性を保持しているかどうか、ゲルろ過や放射性同位元素標識された AdoMet を用いて検証している。

第 3 章では、PrmA の X線結晶解析について述べている。硫酸アンモニウムを用いて得られた予備的な多結晶を、1,6-hexanediol を添加剤として用いることにより精密化を行い、構造解析に至っている。初期位相の決定は、 KAuCl_4 に浸漬した結晶を用いて多波長異常分散法により行っている。最終的には、1.9 Åまでの分解能の native 結晶の X線回折データに移行し、構造を決定している。さらに、AdoMet 複合体の結晶も浸漬法により得ており、単体の分子モデルを用いた剛体近似法により、単位格子内の分子の位置と配向を決定し、2.3 Åまでの分解能で精密化を終えている。

第 4 章では、PrmA の立体構造について詳細に述べている。論文提出者は、PrmA の結晶構造が伸展した形状をしており、C 端のドメインが、アミノ酸配列から予測された通り、AdoMet 依存性メチル基転移酵素ファミリーに共通の

フォールドを含むことを見出している。また、AdoMet 複合体の構造解析からは、この補酵素が実際に AdoMet 依存性メチル基転移酵素フォールド内に結合しており、その認識には、ファミリーで高度に保存されているモチーフが関与していることを明らかにしている。さらに、論文提出者は、PrmA に特異的なアミノ酸残基と AdoMet との間に相互作用を見出している。すなわち、Phe99 と AdoMet の正電荷を帯びた硫黄原子の間の cation- π 相互作用である。また、この特徴的な相互作用により、PrmA 単体では電子密度に認められなかった Gly96 から Thr101 の 6 残基が、AdoMet 複合体ではループとして安定化しており、さらにこれらのアミノ酸残基が、PrmA タンパク質で非常に高度に保存されていることから、Phe99 に因んでこの領域を「F-loop」と名付けている。

さらに、この Phe99 が His104 および Trp247 と相互作用をすることにより、結合した AdoMet に隣接して、非常に高度に保存されているアミノ酸残基で取り囲まれた空間ができることから、この空間を「基質結合ポケット」と結論付けている。実際に、この空間は、AdoMet からメチル基が S_N2 の求核置換反応により基質に転移されるのに適した位置に存在している。また、論文提出者は、さらにこのポケット内を詳細に検証し、Asn191 および Leu192 と水素結合することにより固定されている水分子が、ちょうど AdoMet の硫黄原子と転移されるメチル基の炭素原子を結んだ直線上に存在することから、実際の基質も、同様の結合を介してメチル基転移反応に適した位置および配向に固定されると考察している。さらに、メチル基を転移することにより生成する S-Adenosyl-L-homocysteine (AdoHcy) では、硫黄原子の正電荷が失われることから、F-loop と補酵素との間の親和性が低下し、AdoHcy が放出されると考え、F-loop が PrmA のトリメチル化に中心的なスイッチ構造であると提唱している。

また、既知の L11 の結晶構造を用いて、分子表面の形状および静電ポテンシャルに基づいて結合モデルを作成している。これによると、PrmA のメチル化部位である、L11 の N 端は、PrmA の基質結合ポケットの近傍に位置する可能

性を強く示唆している。

なお、本論文は、東京大学の横山茂之教授、理化学研究所の白水美香子博士、大阪大学の倉光成紀教授、理化学研究所の真岡伸子氏、中川紀子博士、寺田貴帆博士、竹本（堀）千重博士、酒井宏明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。