

## 審査の結果の要旨

論文提出者氏名 島田 信量

タンパク質合成(翻訳)の精度は、tRNA が対応するアミノ酸を受容するアミノアシル化過程で決定されている。この反応を触媒するアミノアシルtRNA 合成酵素(以下、aaRS と略す)は、互いに似通った構造を持つ tRNA 群の中で、ほとんどの場合対応する tRNA の特定配列(アンチコドン部位またはアクセプターシステム)を厳密に識別して認識するが、原核生物及び真核生物の細胞質の翻訳系におけるセリル tRNA 合成酵素(以下、SRS と略す)のみはセリン tRNA の局所構造(長いエキストラアーム領域)を認識することが明らかになっている。

ところが、哺乳動物ミトコンドリアの翻訳系には、原核生物や真核生物(細胞質)のセリン tRNA のように長いエキストラアーム領域を持たず、しかもお互いに塩基配列や高次構造が全く異なる 2 種類のセリン tRNA が存在し、それぞれ AGY コドン(Y は C と U)と UCN コドン(N は A、G、C、U)に対応して翻訳機能を果たしていることが知られている(以下、前者の tRNA を  $tRNA^{SerGCU}$ 、後者を  $tRNA^{SerUGA}$  と略す)。これらの tRNA は哺乳動物ミトコンドリアのセリル tRNA 合成酵素(以下、mtSRS と略す)によってどのように認識されるのか、まず mtSRS 自身それぞれの tRNA に対応して 2 種類の酵素が存在するのか、あるいは単一の酵素であるのか、などの興味深い問題が提起される。本研究は mtSRS について、主として分子生物学的な手法を用いてこれらの問題の解明をはかったものであり全 6 章からなっている。

第一章(序章)は哺乳動物のミトコンドリアとその特異な遺伝子発現系についての概論である。

第二章では研究背景として、原核生物 aaRS を対象とした既往の研究によって得られている知見、中でも aaRS によって認識される tRNA 上の特定の配列・構造因子(tRNA アイデンティティー決定因子)について解説した上で、本論文の研究目的を記述している。

第三章では、ウシ mtSRS のクローニングとその tRNA 特異性に関する解析を行っている。まずウシミトコンドリアからほぼ単一に精製された野生型 mtSRS を用いて活性測定を行い、単一の mtSRS が異なる構造を持つ 2 種類のセリン tRNA を同等の活性でアミノアシル化することを証明した。次いで、ウシ、ヒト、及びマウスの mtSRS をコードする遺伝子配列を決定している。これら哺乳動物 mtSRS と原核生物 SRS のアミノ酸配列の相同性を比較することで得られた配列情報に基づいて、mtSRS の触媒機能と tRNA 認識様式に関する考察を行っている。

第四章では天然の mtSRS に比べてその酵素機能に殆ど遜色のない、大腸菌内で発現させた高純度の組換え mtSRS を用いて tRNA 上の認識部位の同定を試みている。核酸修飾試薬を用いた tRNA フットプリント法と、転写反応により合成した変異セリン tRNA のアミノアシル化活性測定を行うことにより、mtSRS は共通してセリン tRNA の T $\Psi$ C ループ配列を特異的に認識してこの領域に結合するが、 $tRNA^{SerUGA}$  の認識ではさらに D ループが T $\Psi$ C ループを三次元相互作用を介して空間的に支えることで mtSRS の T $\Psi$ C ループへの結合を促進していることを明らかにした。この結果は、mtSRS による 2 種類のセリン tRNA の認識様式が互いに異なっていることを示している。これまでに単一の aaRS が対応する tRNA 群を異なる様式で認識することを見出した研究

報告はなく、これが初めての例となった。

第五章では、哺乳動物ミトコンドリアにおける翻訳精度の維持機構について述べている。まずグルタミンtRNAがtRNA<sup>Ser</sup>UGAと同じTΨCループ配列を持つことに着目し、mtSRSによるアミノアシル化の実験を行うことで、グルタミンtRNAが弱いながらもセリンを受容しうることを明らかにした。aaRSによる天然のtRNAのミスアミノアシル化反応を高等生物の翻訳系で見出した研究報告は他になく、これは非常に興味深い知見である。細胞内でこのようなミスアミノアシル化が起これば翻訳精度の低下を引き起こすため、実際にはグルタミル tRNA 合成酵素がグルタミン tRNA を優先的に認識し、反応速度論的に mtSRS によるミスアミノアシル化を排除することを考察している。

第六章(最終章)では全体を総括した考察が行われている。前半では mtSRS の tRNA 認識メカニズムに関する進化的な考察を行い、後半では、mtSRS に見られる tRNA 識別能力の低さはミトコンドリア aaRS 全体の特徴である可能性が高いことに言及し、ミトコンドリア翻訳系におけるアミノアシル化過程は元来厳密なものではなく、翻訳精度は基質 tRNA に対する aaRS 同士の競争反応(kinetic discrimination)によってエラー頻度( $10^{-4} \sim 10^{-5}$ )以下にまで抑えられていると推測している。

以上、本論文は aaRS-tRNA 間の分子識別機構に関して新しい知見を提供し、哺乳動物ミトコンドリアにおける新規の翻訳精度維持システムを提唱したものである。これらの成果は翻訳系における構造生物学や分子生物学に貢献し、化学生命工学の進展に寄与するところ大である。

よって本論文は博士(工学)の学位請求論文として合格と認められる。