

論文審査の結果の要旨

氏名 伊藤（後藤）桜子

tRNA アンチコドン 3 文字目の 3'側隣位 (37 位) は, 翻訳時のコドン 1 文字目とアンチコドン 3 文字目の対合にスタックする. tRNA37 位のヌクレオチドが修飾されることにより, フレームシフトが防止されている. 本論文では, tRNA37 位のグアノシンに対する連続的な修飾反応に関わる 2 つの修飾酵素 (TRM5, TYW1) について, X 線結晶構造解析を基盤とした研究を行っている. TRM5 は 37 位のグアノシンの N1 原子にメチル基を付加する酵素である. 古細菌と真核生物においてこの修飾 (m^1G37) は, 37 位がグアノシンであるほぼ全ての tRNA に存在する. m^1G37 が導入された複数種の tRNA のうち, 一部の tRNA については, 更に TYW1 以下 4 つの酵素が連続的に反応して一群の 3 環性塩基が形成される.

第 1 章は序論であり, 研究の概要と背景について述べられている. 第 2 章では, 古細菌 *Methanocaldococcus jannaschii* 由来 TRM5 とメチル基供与体アナログ sinefungin の複合体の X 線結晶構造解析と, NMR 法を用いたドメイン間相互作用に関する解析について述べている. 論文提出者は, 大腸菌内で大量発現させた TRM5 を高純度で調製する精製方法を確立し, TRM5 と sinefungin との共結晶化によって良質な結晶を得ている. セレノメチオニン置換体を用いた多波長異常分散法により, TRM5 –sinefungin 複合体の立体構造を分解能 2.2 Å で決定している. TRM5 は 3 つの立体構造ドメイン D1 と D2,D3 からなり, 各々アミノ酸配列の保存性が種間で低い部分 (D1) と, アミノ酸配列が種間で保存されている部分 (D2), I 型メチル化酵素で保存されているロスマンフォールドに相当する部分 (D3) に対応することを見出している. 結晶構造において, D3 は D1, D2 の両方と相互作用しており, D1 と D2 は相互作用していなかった. NMR 法を用いた解析により, D1 と D3 の相互作用は持続的ではなく D1 は D2-D3 に対して動き得ることを見出している.

第 3 章においては *M. jannaschii* 由来 TRM5 と基質 tRNA, メチル基供与体 AdoMet の複合体の X 線結晶構造解析を中心に述べている. 論文提出者は TRM5-tRNA-AdoMet 複合体を調製して結晶を得ることに成功している. 分解能 2.8 Å の X 線回折像から, 分子置換法により立体構造を決定している. 得られた立体構造か

ら、D1はD3から離れて tRNA の D ループ・T Ψ C ループ会合部と相互作用することを見出している。これは、tRNA 修飾酵素が、自身の修飾反応のみならず、tRNA 全体の修飾プロセスを正しく進行させる制御機構を併せ持つことを初めて示唆した結果である。基質 G37 を含むアンチコドンループは、通常より外側に引き出されて G37 は AdoMet のメチル基と向かい合う位置にフリップアウトしている。TRM5 は 37 位にグアノシンがある全ての tRNA を基質とすることが知られているが、実際に立体構造から 37 位以外はヌクレオチド配列非特異的に認識していることを見出している。更に、全長 TRM5 と D2-D3 断片について tRNA に対するメチル基転移反応の速度定数を調べて、D1 が、tRNA に対する結合能を上昇させる一方で反応回転数を低下させることを明らかにしている。

第 4 章では、古細菌 *Pyrococcus horikoshii* 由来 TYW1 の X 線結晶構造解析について述べている。セレノメチオニン置換体を用いた単波長異常分散法により分解能 2.2 Å の立体構造を決定している。得られた立体構造から示唆された 2 つの鉄硫黄クラスター結合部位に関して、鉄硫黄クラスターを再構築して鉄硫黄クラスターの存在を決定している。また、TRM5-tRNA 複合体中の tRNA 立体構造を用いて TYW1-tRNA 結合モデルを提唱している。

第 5 章においては、第 2 章から第 4 章までの結果から、TRM5 の D1 の機能について考察している。また、TRM5 と TYW1 の連続反応における関連性や、他の修飾酵素との関連性などについて述べている。

なお、本論文第 2 章は東京大学の横山茂之教授、伊藤拓宏助教、理化学研究所の石井亮平博士、別所義隆博士、武藤裕博士との共同研究であり、第 3 章は東京大学の横山茂之教授、伊藤拓宏助教、理化学研究所の別所義隆博士との共同研究、第 4 章は東京大学の横山茂之教授、伊藤拓宏助教、関根俊一講師、理化学研究所の石井亮平博士、別所義隆博士、柴田理恵氏、房富絵美子氏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。