

論文審査の結果の要旨

氏名 倉谷 光央

本論文は7章からなる。第1章は、イントロダクションであり、tRNA、tRNA修飾塩基、修飾酵素の性質、及び修飾酵素の立体構造に関するこれまでの研究について網羅的に説明されている。

第2章では、細菌 *Aquifex aeolicus* 由来 TadA タンパク質の X 線結晶構造解析について述べられている。TadA の構造は高分子核酸に特異的に働く脱アミノ化酵素として初めての構造である。既に構造が決定されている塩基の代謝系に働く脱アミノ化酵素との構造比較が行われ、三次構造、及び四次構造に基づいて分類されている。TadA の基質結合部位に存在する保存性の高いアミノ酸残基が tRNA に結合すると推定され、tRNA 結合時における役割が議論されている。

第3章では、細菌 *A. aeolicus* 由来 TisS と基質である ATP、マグネシウムイオン、及び L-リジンとの複合体の X 線結晶構造解析について述べられている。当研究以前に TisS の単体構造は既に発表されていたが、複合体構造として新規である。構造に基づいて基質の結合様式が解明され、アラニン変異体の活性測定結果が明快に説明されている。L-リジンの認識は TisS 特有である一方、ATP、マグネシウムイオンの結合様式、および推定されるそれらの構造変化に関する知見は同じ N 型 ATP 加水分解酵素ファミリーに属する他の酵素でも普遍的であると考えられる。さらに、*A. aeolicus* TisS にはジスルフィド結合が含まれることが見出され、その構造安定化効果が DSC 測定により定量されている。生理的条件下で細菌 *A. aeolicus* 由来の細胞質タンパク質中に含まれるジスルフィド結合の構造安定化効果を見積もった例は初めてである。

第4章では、古細菌 *Pyrococcus horikoshii* 由来の修飾酵素群を用いて、T ループに存在する 2 つのメチル化塩基の修飾効率と tRNA 構造変化との関連について解析されている。メチル基転移酵素 TrmU54、aTrm56 は S'-アデノシル-L-メチオニン(AdoMet)を基質として、それぞれ 54 位のウリジン残基を 5-メチルウリジン(m⁵U54)に、56 位のシチジン残基を 2'-O-メチルシチジン(Cm56)に修飾する。tRNA 構造をラムダ型に変換する働きを持つ酵素である ArcTGT の存在化と非存在化で TrmU54 と aTrm56 の活性測定が行われ、tRNA が L 字型構造からラムダ型構造へ構造変化を起こすと、m⁵U54 と Cm56 の修飾効率はそれぞれ促進、抑制されることが明らかにされている。

第5章では、aTrm56 と基質 AdoMet との複合体の X 線結晶構造解析、及び変異体の活

性測定について述べられている。構造に基づいて、AdoMet の近傍にある幾つかの保存性の高いアミノ酸残基をアラニンに置換した変異体が作成され、それらの活性測定から aTrm56 の反応を触媒するのに重要な残基が同定されている。aTrm56 は SpoU ファミリーに属するが他の酵素との配列相同性が低く、構造に基づいたアミノ酸配列のアラインメントにより SpoU ファミリーで高度に保存されていると思われていたモチーフ I の残基は別の位置に置き換わっていることが報告されている。

第 6 章では、tRNA アクセプターステム部位に結合する ThiI の存在化と非存在化における Tils の活性測定について述べられている。第 7 章では、総合討論がされている。

第 2 章、第 3 章、及び第 5 章では、それぞれ X 線結晶構造に基づいた新規な発見と実験結果に基づく妥当な生物学的な解釈がなされている。第 4 章及び第 6 章では、tRNA 修飾過程で同一カスケード上に無く一見無関係である二つの酵素間の協調性、競争性が調べられている。一つの tRNA 基質の構造変化が、間接的に 2 つの修飾酵素の活性に及ぼす影響を解析した例はこれまでに報告されておらず、独自の着眼点であると言える。第 1 章及び第 7 章の内容から当該分野における全般的知識を十分に有していると判断できる。全章にわたり明瞭に記述されている。

なお、本論文第 2 章は石井亮平、別所義隆、福永流也、仙石徹、白水美香子、関根俊一、横山茂之との、第 3 章は吉川由香、別所義隆、東島今日子、石井健、柴田理恵、高橋征三、油谷克英、横山茂之との、また第 4 章は、別所義隆、西本まどか、Henri Grosjean、横山茂之との共同研究であるが、各章の内容に関しては、論文提出者が主体となって実験計画の策定、遂行、分析、検証及び論文執筆を行っていることから論文提出者の寄与が十分であり、論文提出者は独自に研究を遂行できる能力を有していると判断する。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。