

[課程-2]

審査の結果の要旨

氏名 海津正賢

本研究は、真核生物の tRNA^{Phe} の 37 位 yW の生合成経路の第 3 段階、AdoMet の acp 基により imG-14 から大きな側鎖をもつ塩基 yW-86 を合成する酵素 TYW2 の反応機構に着目し、*Pyrococcus horikoshii* 及び *Methanococcus jannaschii* の TYW2 ホモログタンパク質 (PhTYW2 及び MjTYW2) の精製を行い、これらの古細菌由来 TYW2 ホモログタンパク質が真核生物同様に AdoMet の acp 基転移による yW-86 の合成を触媒するかを検証するとともに、X 線結晶構造解析により AdoMet を補因子とする acp 基転移機構についての構造基盤を原子レベルで明らかにすることを試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 放射性同位体を用いた acp 基転移活性の測定及び共同研究による質量分析を用いた解析の結果、古細菌由来 TYW2 ホモログタンパク質が、真核生物由来 TYW2 同様、AdoMet の acp 基を tRNA^{Phe}-imG-14 に転移し、長い側鎖をもつ塩基 yW-86 を合成する活性を有することが示された。
2. X 線結晶構造解析により、PhTYW2-AdoMet 複合体、PhTYW2-MeSAdo 複合体、MjTYW2-AdoMet 複合体の構造決定に成功した。PhTYW2 及び MjTYW2 の全体構造は、N 末端ドメイン及びメチルトランスフェラーゼ(MTase)構造をもつ C 末端ドメインの 2 つの領域からなり、AdoMet は C 末端ドメインに結合するが、従来の MTase-AdoMet 複合体の構造とは異なり、acp 基をより基質結合部位近傍に位置する構造をとっていることが示された。
3. TYW2 と高い構造類似性を有するメチル化酵素 Trm5 の活性部位との比較及び変異体解析から、TYW2 において良く保存された特徴的な残基：(1) M cavity における His/Tyr 残基、(2) ヘリックス α 5 の Pro 残基、(3) A cavity を構成する Asn 及び Arg 残基、の存在が acp 基の転移活性に重要であることが示された。
4. TYW2 と tRNA のドッキングモデルを構築し、TYW2 の N 末端ドメインの中心部に存在する正電荷領域が基質 tRNA のアンチコドンステムループの認識に関与する可能性を示唆した。また、変異体解析の結果から、N 末端ドメインのディスオーダーしているループ構造中に存在する保存された Arg 残基が tRNA の認識に重要である可能性が示唆された。

以上、本論文は古細菌における TYW2 ホモログタンパク質が、AdoMet 依存的な acp 基の転移活性を有することを初めて示すとともに、古細菌 TYW2-AdoMet 複合体の X 線結晶構造解析により、TYW2 が従来の MTase とは異なり、AdoMet のメチル基でなく acp 基を転移する構造的基盤を明らかにした。本研究は、これまで未知に等しかった、古細菌における超修飾塩基 yW-86 による遺伝暗号翻訳の正確性保持機構、及び AdoMet を補因子とする acp 基転移機構の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。