

# 論文試験の結果の要旨

氏名 佐々木 浩

本論文は4章から構成される。

第1章は序論であり、本論文で行った研究の背景と目的を記載している。まず、遺伝暗号翻訳を概説し、アミノアシル tRNA 合成酵素(aaRS)によるアミノ酸とtRNAとの対応付けが、遺伝暗号翻訳の信頼性保障の鍵となると述べている。その上で、class II アミノアシル tRNA 合成酵素に注目し、本論文の主対象となっているフェニルアラニル tRNA 合成酵素(PheRS)のチロシンに対する校正機構とヒスチジル tRNA 合成酵素(HisRS)の tRNA 認識機構について、その研究の歴史と背景を解説し、これらの分子基盤の理解のために、X線結晶構造解析が重要であると提起している。

第2章は、古細菌/真核生物型 PheRS 校正ドメインの結晶構造解析および生化学的解析について述べている。論文提出者は、古細菌 *Pyrococcus horikoshii* 由来 PheRS- $\beta$  の校正ドメインを含む N 末端フラグメントの立体構造を分解能 1.94 Å で決定した。本構造は、古細菌/真核生物 PheRS に関して、部分構造としても初の報告である。そして、既に構造決定されていた細菌 *Thermus thermophilus* 由来 PheRS の立体構造との比較より、古細菌/真核生物型と細菌型の校正ドメインにおける違い、特に、それぞれの型に特有の挿入領域/欠失領域の存在と保存モチーフのパターンの差異を見出した。次に、構造解析の結果をもとに詳細な変異体解析を行い、古細菌/真核生物型 PheRS の校正機構に関わるアミノ酸残基を複数同定した。最後に、古細菌/真核生物型 PheRS 校正ドメインと校正基質との結合モデルを作製し、変異体解析により校正機構への関与が明らかとなったアミノ酸残基の機能について議論している。以上の結果から、古細菌/真核生物型 PheRS 校正ドメインが細菌型とは異なる校正機構を持つことを明らかにしている。

第3章は、HisRSによるtRNA認識機構の構造基盤について述べている。論文提出者は、細菌 *T. thermophilus* 由来 HisRS、ヒスチジン tRNA (tRNA<sup>His</sup>)、His-SA の三者複合体の立体構造を分解能 2.3 Å で決定した。本構造は、HisRS•tRNA 複合体構造として初の報告である。その結果、変異体解析によって認識への重要性が示されていたモチーフ 2 上のアルギニン残基とグルタミン残基がそれぞれ、tRNA<sup>His</sup> 特異的に存在する G-1 の塩基および 5'リン酸基、G-1 と塩基対を形成する

C73 の塩基を認識していることを見出した。さらに、活性部位と CCA 末端との結合様式を詳細に分析し、HisRS において高度に保存された VRGLDYY ループおよび挿入ドメインの構造変化を明らかにした。その一方で、今回決定した複合体構造中では、アンチコドンループの 32, 33, 38 番の電子密度が観察されず、アンチコドン結合ドメインとの結合により、アンチコドンアームが固定されていないことを見出した。その上で、HisRS システムにおいて、tRNA 基質特異性におけるアンチコドンの寄与が低いのは、アンチコドンとの結合が tRNA の HisRS に対する配向を決定しないためであると議論している。

第 4 章は、第 2 章および第 3 章の結果を踏まえた総合討論を行っている。まず、第 2 章の内容について、PheRS 校正ドメインの進化、校正反応の触媒機構、タンパク質工学的応用について議論している。次に、第 3 章の内容について、tRNA アイデンティティに対するアンチコドンの寄与、モチーフ 2 ループによる tRNA 識別、アイデンティティ因子の反応速度論的な寄与について議論している。

本論文に記載された一連の研究は、アミノ酸認識・tRNA 認識という 2 つの側面から、アミノアシル tRNA 合成酵素の基質特異性について分析し、遺伝暗号翻訳の信頼性保障機構を明らかにしたものであり、当該分野において重要な生物学的意義を持つと評価する。また、論文提出者は、当該分野における包括的知識と議論の能力を十分に有していると判断する。論文は全体にわたり、平易で明快な文章により記述されている。

なお、本論文の第 2 章は、東京大学の横山茂之教授、関根俊一特任准教授、福永流也博士（現・University of Massachusetts 研究員）、仙石徹博士（現・理化学研究所研究員）、服部素之博士（現・Oregon Health & Science University 研究員）、理化学研究所の倉光成紀グループディレクター、白水美香子チームリーダー、黒石千寿博士、宇都宮幸子氏との共同研究であるが、論文提出者が主体となって実験および考察を行ったもので、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。