

論文審査の結果の要旨

氏名 永沼政広

本論文は4章からなる。

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。最初に、遺伝暗号の翻訳においてアミノアシルtRNA合成酵素 (aaRS) がアミノ酸やtRNAを正確に認識することの重要性を述べ、その背景を解説している。次に、本論文の研究において主な対象となっているアラニルtRNA合成酵素 (AlaRS) やアラニンのtRNA ($tRNA^{Ala}$)、及びG:U塩基対についてそのより詳細な背景を述べている。それらを踏まえ、AlaRSのG3:U70塩基対認識による $tRNA^{Ala}$ 選択についての背景を解説し、この選択機構の理解のために、AlaRSと $tRNA^{Ala}$ 複合体のX線結晶構造解析が必要であると提起している。

第2章は、2断片化したAlaRSのX線結晶構造解析について述べている。論文提出者は、全長AlaRSをN末端フラグメント (AlaRS- Δ C) とC末端フラグメント (AlaRS-C) の2つの断片に分けてそれぞれ結晶化することで、AlaRSの全てのドメイン構造を明らかにしている。また、AlaRS- Δ Cの構造からアミノアシル化ドメインと校正反応ドメインの相対配置が、従来予想されていた配置と、全く異なることを見出した。この結果から、まったく新しい $tRNA^{Ala}$ 結合モデルを提案し、その独特な結合位置について議論している。AlaRS-Cの構造からAlaRSの二量体化相互作用様式を明らかにして、全長AlaRSの二量体モデルを作成し、議論を行なっている。

第3章は、AlaRSによるG3:U70塩基対依存的 $tRNA^{Ala}$ 選択機構について述べている。論文提出者は、第2章で明らかにしたAlaRS- Δ CとAlaRS-Cの構造情報をもとにAlaRS $\cdot tRNA^{Ala}$ 複合体の結晶構造を決定した。この構造からAlaRSは $tRNA^{Ala}$ の周りを取り囲みさらにアクセプターステムを主溝、副溝の両側から挟み込むという、AlaRS特有のtRNA結合様式を採用することで、G3:U70塩基対と密接な相互作用を形成することを見出した。次に、論文提出者は、G3:U70塩基対をA3:U70塩基対に置換した不活性状態の複合体結晶構造を決定した。2つ

の複合体構造において tRNA^{Ala} の構造を比較し、G3:U70 塩基対と A3:U70 塩基対の構造の違いが、アクセプターアーム全体に影響して、それらの結合様式に違いを与えていることを見出した。このアクセプターアームの結合様式の違いが、活性状態と不活性状態の構造の違いを表していると議論している。実際に、野生型複合体において観察できたアミノアシル化される 3'-末端の電子密度は、不活性型複合体において消失している。さらに、論文提出者は、G3:U70 塩基対と相互作用しているアミノ酸残基の変異体 AlaRS や、G3:U70 塩基対をワトソン-クリック型塩基対に置換した変異体 tRNA^{Ala} を用いてアミノアシル化活性測定を行なっている。その結果、G3:U70 塩基対と相互作用しているアミノ酸側鎖はワトソン-クリック型塩基対を排除する役割をもつことを明らかにしている。以上の結果から、AlaRS は密接な相互作用によってアクセプターステム及び 3:70 番の塩基対を正確に位置決めし、3:70 番にワトソン-クリック型塩基対を持つ tRNA を活性のない様式で結合する事で排除し、G3:U70 塩基対に依存した tRNA^{Ala} 選択を達成していると議論している。

第4章は、第3章の結果を踏まえた総合討論を行い、tRNA^{Ala} 選択機構、tRNA^{Ala} の結合や解離などの動態について、G:U 塩基対の位置について議論している。

本論文に記載された研究は、遺伝暗号の翻訳における重要な分子基盤や、一つの塩基対に依存した RNA 選択機構という独特な RNA 選択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、生化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、及び第3章は、東京大学の横山茂之教授、関根俊一准教授、福永流也博士（現・University of Massachusetts 研究員）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。