最近の研究から

結晶構造解析から明らかとなった
tRNA のアグマチニル化修飾機構

産業技術総合研究所バイオメディカル研究部門RNA プロセッシング研究グループ 沼田倫征, 大澤拓生

Tomoyuki NUMATA and Takuo OSAWA: Mechanism for tRNA Agmatinylation Revealed by X-ray Crystallography

The cytidine at the first position of the anticodon (C34) in the AUA codon-specific archaeal tRNA^{Ile2} is modified to 2-agmatinylcytidine (agm²C), which is crucial for the precise decoding of the genetic code. This modification is catalyzed by tRNA^{Ile}-agm²C synthetase (TiaS), using ATP and agmatine as substrates. We have determined the crystal structures of TiaS-tRNA^{Ile2} complexed with ATP, or with AMPcPP and agmatine, revealing a novel kinase module requisite for activating C34 by phosphorylation. These structures showed that agmatine is essential for placing C34 in the active site. We also revealed the molecular mechanism by which TiaS discriminates tRNA^{Ile2} from other tRNAs.

1. はじめに

生物の設計図とも言える DNA には遺伝情報が記憶されており, 生物はその遺伝情報に基づいてタンパク質を合成する. この過程において, DNA に記された遺伝情報は, いったん, RNA に写し取られ, メッセンジャー RNA (mRNA) が作られる. 次に, タンパク質合成工場であるリボソームが mRNA と結合し, トランスファー RNA (tRNA) が mRNA に写し取られた遺伝情報を読み取る. tRNA の 3' 末端にはアミノ酸が 1 つ付加しており, リボソームの触媒作用によってアミノ酸が次々と連結しタンパク質が合成される. RNA はアデニン (A), グアニン (G), シトシン (C), ウラシル (U) という 4 種の塩基からなるヌクレオシドが重合したポリマーである. mRNA では, 連続する 3 つの塩基が 1 組となってコドンと呼ばれる遺伝暗号を形成する. 一方, tRNA にはアンチコドンと呼ばれる領域があり, このアンチコドンが mRNA 上のコドンを塩基対合により認識する. したがって, 遺伝暗号を正確に解読するうえで, tRNA のアンチコドンがそれに対応するコドンのみを忠実に認識することが求められる.

コドンは連続した 3 つの塩基から構成されるため 64 通り存在するが, タンパク質を構成するアミノ酸は 20 種類しか存在しない. したがって, 通常, 複数のコドンが 1 種類のアミノ酸を指定している. コドンとアミノ酸の対応関係についてはある程度の法則性があり, コドン 1 文字目と 2 文字目の塩基の並びのみでアミノ酸が決まるタイプと, コドン 1 文字目, 2 文字目および 3 文字目の塩基の並びによってアミノ酸が決まるタイプに分かれている. 後者のタイプでは, 通常, コドン 3 文字目がピリミジン塩基 (C と U)

であるかプリン塩基 (A と G) であるかによって指定するアミノ酸が異なる. いずれにせよ, コドン 1 文字目, 2 文字目はそれぞれアンチコドン 3 文字目, 2 文字目とワトソン・クリック型の塩基対を形成するのに対し, コドン 3 文字目はアンチコドン 1 文字目との間に wobble 塩基対と呼ばれる曖昧な塩基対合が許容される. これにより 1 種類のアンチコドンが複数のコドンを認識できるようになっている. その際, 許容される wobble 塩基対合はアンチコドン 1 文字目に配置されている修飾ヌクレオシドの種類により厳密に制御されている. つまり, アンチコドン 1 文字目に存在する修飾ヌクレオシドは, コドン 3 文字目との wobble 塩基対合を調節し, 遺伝暗号の正確な解読を保証するという重要な役割を担っている.

2. イソロイシン AUA コドンの解読

コドン 1 文字目, 2 文字目および 3 文字目の塩基の並びによってアミノ酸が決まるコドンタイプでは, 通常, 3 文字目がピリミジン塩基かプリン塩基かによって指定するアミノ酸が異なる. しかし, イソロイシンのコドン (AUU, AUC, AUA) とメチオニンのコドン (AUG) は例外で, コドン 3 文字目の違いによるアミノ酸の振り分けパターンが上記のケースとは異なっている. つまり, AUA と AUG はともにコドン 3 文字目にプリン塩基を有しているが, それぞれイソロイシンまたはメチオニンという別々のアミノ酸として解読されなければならない. 生物はイソロイシンのコドンを解読する tRNA (tRNA^{Ile}) のアンチコドン 1 文字目に特殊な修飾を施すことによって, AUA と AUG コドンを識別している.

tRNA^{Ile} のアンチコドン 1 文字目の修飾形態は生物界に

より異なる. 真核生物では, tRNA^{Ile}のアンチコドン1文字目がイノシン(修飾アデノシンの1種)などに変換されている.¹⁾ イノシンは, U, C, Aと塩基対合するため, この

図1 真正細菌および古細菌における AUA コドンの解読機構. (Mechanism for AUA codon decoding in bacteria and archaea.) コドンは右から左への表記になっている. 修飾前の tRNA^{Ile2} は CAU アンチコドン配列をもつため, メチオニンのコドン AUG を認識するとともに, その3'末端にメチオニンを受容する. アンチコドン1文字目のシチジンを修飾することで, イソロイシンの AUA コドンを認識できるようになり, かつ, その3'末端にイソロイシンを受容する能力を獲得する. “*C” は修飾シチジンを, また, “•” は wobble 塩基対を示している.

修飾によりイソロイシンの3つのコドン (AUU, AUC, AUA) を1種の tRNA^{Ile} で解読することができる. 一方, 原核生物は, tRNA^{Ile2} のアンチコドン1文字目に修飾シチジンを配置し, AUA コドンの解読に対応している²⁾⁴⁾ (図1) (原核生物には tRNA^{Ile1} と tRNA^{Ile2} の2種類の tRNA^{Ile} が存在し, tRNA^{Ile1} が AUU と AUC コドンを, tRNA^{Ile2} が AUA コドンを解読する). 興味深いことに, 修飾前の tRNA^{Ile2} は tRNA^{Met} と同じアンチコドン配列 (CAU) をもち, これはメチオニンの AUG コドンと相補的な関係にある. このため, 修飾前の tRNA^{Ile2} は, あたかも tRNA^{Met} のように振る舞い, AUG コドンを誤って解読するとともに,³⁾⁵⁾ メチオニル tRNA 合成酵素により誤認識され, その3'末端にメチオニンを受容してしまう.⁵⁾⁶⁾ したがって, tRNA^{Ile2} におけるアンチコドン1文字目のシチジン (C34) の修飾は, tRNA^{Ile2} のイソロイシン受容能および AUA コドン特異性を決定する重要な修飾であり, 正しいタンパク質合成に欠かすことができない.

3. AUA コドンの解読に不可欠な修飾シチジンとその生合成酵素

C34 の修飾形態は真正細菌と古細菌で異なる. 真正細菌では C34 がアミノ酸のリジンで修飾されライシジンに変換されているのに対し²⁾ (図2a), 古細菌ではポリアミン

図2 修飾シチジンの化学構造と生合成反応スキーム. (Chemical structures and reaction schemes for the formation of modified cytidine.) (a) ライシジンの化学構造. (b) agm²C の化学構造. (c) ライシジンの生合成反応スキーム. ライシジンは TiiS により, アデニル化中間体を介して合成される. (d) agm²C の生合成反応スキーム. agm²C は TiaS により, リン酸化中間体を介して合成される.

図3 TiaS-tRNA^{Ile2}-ATP 複合体 (3 者複合体) の結晶構造. (Crystal structure of the TiaS-tRNA^{Ile2}-ATP ternary complex.) (a) 3 者複合体の全体構造. (b) ZR ドメインとアクセプターステムの相互作用のステレオ図. (c) FL ドメイン, OB ドメインとアンチコドンアームの相互作用のステレオ図.

の1種であるアグマチンで修飾された2-アグマチニルシチジン (agm²C) として存在している^{3),4)} (図2b). ライシジンと agm²C の化学構造はよく類似しており, これは機能的な収斂進化の結果であると考えられる. これら修飾ヌクレオシドは, tRNA^{Ile2} が転写された後, tRNA 修飾酵素によって形成される. ライシジンは酵素 Tils (tRNA^{Ile} ライシジン合成酵素) により ATP 依存的に合成される.⁷⁻⁹⁾ Tils には N 型 ATP ピロホスファターゼモチーフが存在し, ATP を使って C34 をアデニル化し活性化する. その後, リジンがこのアデニル化中間体を求核攻撃してライシジンが形成される (図2c). 一方, agm²C の生合成は TiaS (tRNA^{Ile} agm²C 合成酵素) と呼ばれる酵素により ATP およびアグマチン依存的に触媒される.³⁾ ライシジンと agm²C はその化学構造と生物学的な機能が類似しているのに対し, TiaS は Tils とアミノ酸配列の相同性を有しておらず, Tils とはまったく異なるしくみで C34 を修飾することが推定された. しかしながら, TiaS には一次構造上, 既知の ATP 結合モチーフが存在しないばかりか, そのドメイン構成自体もほぼ不明であった. そのため, agm²C 形成反応を触媒するしくみや, 基質 tRNA^{Ile2} の認識機構などが明らかではなかった. われわれは, TiaS と tRNA^{Ile2} との複合体の結晶構造を解析し, tRNA^{Ile2} をアグマチンで化学修飾するしくみを解明した.¹⁰⁾

4. TiaS と tRNA^{Ile2} との複合体の結晶構造

大腸菌 C41 (DE3) 株を宿主として, 古細菌 *Archaeoglobus*

fulgidus 由来 TiaS の組換えタンパク質を調製した. また, T7 RNA ポリメラーゼを用いた *in vitro* 転写によって *A. fulgidus* 由来 tRNA^{Ile2} を合成した. 得られたサンプルを用いて, TiaS, tRNA^{Ile2}, ATP からなる 3 者複合体の結晶および TiaS, tRNA^{Ile2}, AMPcPP (非加水分解性 ATP アナログ), アグマチンからなる 4 者複合体の結晶を調製した. Photon Factory の BL17A にて回折実験を行い, まず, セレノメチオニン標識タンパク質を用いた単波長異常分散法によって TiaS-tRNA^{Ile2}-ATP 複合体 (3 者複合体) の結晶構造を 2.9 Å 分解能で決定した. 次に, TiaS-tRNA^{Ile2}-AMPcPP-アグマチン複合体 (4 者複合体) の結晶構造を分解能 3.1 Å で決定した.

TiaS は TCK (Thr18-C34 キナーゼ) ドメイン, FL (フェレドキシン様) ドメイン, OB (OB フォールド) ドメイン, ZR (ジंकリボン様) ドメインと名づけた4つの領域から構成されており, 結晶構造解析によって初めてそのドメイン構成が明らかとなった (図3a). tRNA のアンチコドンアームは TCK ドメイン, FL ドメインおよび OB ドメインと, 一方, アクセプターステムは ZR ドメインと相互作用していた. 3 者複合体と 4 者複合体の全体的な構造は類似していたが, これら複合体の構造を詳しく解析した結果, 活性部位における tRNA アンチコドン領域の構造がアグマチンの有無で大きく異なることが明らかとなった. この構造の違いについては後ほど詳述する. また, 本稿では特に記述がない限り TiaS-tRNA^{Ile2}-ATP からなる 3 者複合体の構造について解説する.

5. TiaS と tRNA^{Ile2} との相互作用

ZR ドメインは, TCK ドメイン, FL ドメインおよび OB ドメインが形成する揺りかご状の構造から突出した構造体を形成し, tRNA アクセプターシステムの主溝と形状相補的に結合していた (図 3a). 結晶構造では, アクセプターシステムを構成する 1 位および 2 位のグアニン塩基 (G1 と G2) が Arg369 の側鎖と, また, 71 位のシトシン塩基 (C71) が Ser361 の主鎖カルボニルと水素結合を形成し, 塩基特異的に認識されていた (図 3b). Arg369 をアラニン残基に置換した変異体では, agm²C 合成活性がほぼ消失することが明らかとなり, この相互作用の重要性が確認された.

一方, tRNA^{Ile2} のアンチコドンアームは, TCK ドメイン, FL ドメインおよび OB ドメインによって形成された揺りかご状の構造に沿って結合し (図 3a), TiaS との相互作用に伴ってその構造が大きく変化していた. 3 者複合体中では, 修飾を受ける C34 はアンチコドンループから完全にフリップアウトして, FL ドメインに形成されたポケットに配置され, Gly215 の主鎖カルボニルと水素結合を形成していた (図 3c). また, 36 位のウラシル塩基 (U36) と 37 位のアデニン塩基 (A37) は互いにスタッキングしながら OB ドメインに結合し, それぞれ Leu333 と Ala400 の主鎖との水素結合によって特異的に認識されていた (図 3c). U36 と A37 をそれぞれほかのヌクレオシドに置換した変異型 tRNA^{Ile2} ではアグマチン受容活性が消失することからも, この相互作用の重要性が確認された. このように, TiaS はアンチコドンアームの構造を変化させ, 基質となる tRNA を塩基特異的に認識する. これは, アミノアシル tRNA 合成酵素による基質 tRNA の選択メカニズムとよく類似している.^{11),12)}

6. tRNA^{Ile2} と tRNA^{Met} の選別機構

tRNA^{Met} には, イニシエーター tRNA^{Met} およびエロンゲーター tRNA^{Met} と呼ばれる 2 種類が存在する. tRNA^{Ile2} はこれら 2 種の tRNA^{Met} と同じアンチコドンループの配列を有しており, その一次構造は全体にわたって tRNA^{Met} のものとよく類似している. ただ, 遺伝暗号を正確に解読するには, TiaS が tRNA^{Ile2} と tRNA^{Met} の違いを識別し, tRNA^{Ile2} のみを特異的にアグマチンで修飾しなければならない. TiaS と tRNA^{Ile2} との複合体の構造解析から, TiaS が tRNA^{Ile2} のアクセプターシステムおよびアンチコドンアームと相互作用することがわかり (図 3a), 当該領域が tRNA^{Met} との識別にかかわることが推定された. そこで, TiaS が tRNA^{Ile2} を選択するしくみを解明するために, tRNA^{Ile2} 変異体を作製しそのアグマチン受容活性を測定した (図 4). まず, tRNA^{Ile2} のアクセプターシステムとアンチコドンシステムをそれぞれ tRNA^{Met} の相当配列に置換したところ, アクセプターシステムを入れ替えた変異体で活性が消失していた. したがっ

図 4 変異体 tRNA^{Ile2} のアグマチン受容活性. (Agmatine-accepting activity of the mutant tRNA^{Ile2}.) tRNA^{Ile2} の二次構造を図の中央に示している. 多重塩基対置換体については, 二次構造の右側に, tRNA^{Ile2} のものと入れ替えたイニシエーターおよびエロンゲーター tRNA^{Met} の相当配列を示している (イニシエーターとエロンゲーター tRNA^{Met} の配列をそれぞれイタリック文字と小文字で示している). 野生型 tRNA^{Ile2} のアグマチン受容活性を 100 % とした際の, 各変異体の活性を括弧内に示している. 二次構造の左側には, 1 塩基対置換体のアグマチン受容活性を示している.

て, TiaS はアクセプターシステムを認識し両者を選別すると考えられる. 次に, tRNA^{Ile2} のアクセプターシステムを上側 3 塩基対と下側 4 塩基対に分けて, それぞれを tRNA^{Met} の相当領域に置換した結果, 上側 3 塩基対を入れ替えた変異体 tRNA^{Ile2} のアグマチン受容活性がほぼ消失していた. さらに, アクセプターシステムの上側 3 塩基対について個々の塩基対の影響を調べたところ, アクセプターシステムの上位 2 つの GC 塩基対 (G1-C72 と G2-C71) をそれぞれ tRNA^{Met} タイプ (A1-U72 もしくは C2-G71) に置換した変異体で, アグマチン受容活性がほぼ消失した. 古細菌の tRNA^{Ile2} では, これら 2 つの GC 塩基対は高度に保存されており, 前述のとおり ZR ドメインの Arg369 および Ser361 によって配列特異的に認識されている (図 3b). したがって, TiaS はアクセプターシステムの G1-C72 と G2-C71 塩基対を認識し, tRNA^{Ile2} を tRNA^{Met} から区別していると考えられる. TiaS が tRNA のアクセプターシステムを見分けて tRNA^{Ile2} と tRNA^{Met} を選別するしくみは, ライジンを合成する酵素 TisS が両者を識別するメカニズムとよく類似している.⁸⁾

7. 触媒ドメインの同定

TiaS は ATP 依存的に agm²C の形成を触媒する.³⁾ しかしながら, そのアミノ酸配列中には既知の ATP 結合モチーフが存在せず, 酵素のどの部位に ATP が結合し, どのよう

図5 TCK ドメインの構造. (Structure of the TCK domain.) (a) ATP の結合部位. (b) TCK ドメインと ATP との相互作用のステレオ図.

にそれを利用するのか不明であった. 今回の結晶構造解析から TiaS のドメイン構成がわかり, TCK ドメインと名づけた N 末端側のドメインに ATP が結合することが初めて明らかとなった (図 3a). TiaS は ATP を塩基特異的に認識し, 特徴的な 2 本のループ (P1 および P2 ループ) を用いて ATP の三リン酸と強固に結合していた (図 5). 一方, 生化学的な実験から,¹³⁾ TiaS がまず ATP を AMP とピロリン酸に加水分解し, 生じたピロリン酸の ATP γ リン酸に由来するリン酸基を使って C34 の 2 位カルボニル基をリン酸化し活性化することが明らかとなった (図 2d). P1 ループには保存されたアスパラギン酸残基 (Asp8, Asp9, Asp11) が存在し, これらは ATP の三リン酸を取り囲むように配置していた. これらをアラニン残基に置換した変異体では, ATP の加水分解活性および agm²C 形成活性がともに消失しており, このドメインが C34 のリン酸化にかかわることが示唆された.

さらに今回の研究から, ATP 結合部位を構成する Thr18 がリン酸化されていることも明らかとなった (図 5). このリン酸化は質量分析でも確認されており,¹³⁾ TiaS が ATP を利用して Thr18 を自己リン酸化することが判明した. このように, TiaS の N 末端ドメインは, 自身の Thr18 と tRNA の C34 をリン酸化する活性を有していることから, われわれはこのドメインを TCK (Thr18-C34 キナーゼ) ドメインと命名した. Thr18 は TiaS ファミリーで高度に保存されており, 変異体解析の結果, ATP の加水分解および agm²C 形成に不可欠であることが明らかとなった. リン酸化 Thr18 は ATP γ リン酸の近傍に配置されている (図 5b). その生理的な役割については現在のところ解明されていないが, 触媒作用に不可欠なマグネシウムイオンの配位にかかわると思われる. 今回の結晶構造解析では, マグネシウムイオンの結合部位を特定することはできなかったが, リン酸化 Thr18 と P1 ループ上にある上記 3 つのアスパラギン酸残基によって構成されたアニオンクラスターにマグネシウムイオンが配位すると考えられる. また後述するように, われわれは, C34 のリン酸化後に起こる tRNA アンチコドン領域の構造変化にも, リン酸化 Thr18 がかわるかと考えている.

TCK ドメインの立体構造は RNA recognition motif (RRM) フォールドと類似していた. RRM フォールドはフェレドキシン様構造と類似しており, RNA 結合タンパク質をはじめさまざまなタンパク質に見られる普遍的な基本構造である. RRM フォールドは DNA/RNA ポリメラーゼの触媒ドメインやヌクレオチド三リン酸キナーゼなどにも含まれており, ATP などヌクレオチド三リン酸と結合する. ただし, これらタンパク質における ATP の結合様式や触媒残基の配向は, TiaS の TCK ドメインにおけるそれらとまったく異なっていることから, TCK ドメインは新規な ATP 利用モジュールであると捉えることができる. 結晶構造解析によって, これまでに知られていなかった新たな ATP 利用モジュールを同定できたことは, タンパク質の構造と機能を分子進化の側面から考察するうえで大変興味深いものである.

8. アグマチンの結合部位

TiaS-tRNA^{Ile2}-AMPcPP-アグマチン複合体 (4 者複合体) の結晶構造解析から, アグマチンの結合部位を同定した (図 6a). アグマチンは FL ドメインに形成されたポケットに配置され, そのグアニジル基は Gly215 および Asp193 の主鎖カルボニルと, 一方, アミノ基は 35 位のアデノシン (A35) のリン酸基および 33 位のウラシル塩基 (U33) と水素結合していた. 興味深いことに, アグマチンは, 3 者複合体中における C34 の結合部位と同じ場所を占めていた. つまり, 4 者複合体中におけるアグマチンの結合部位は, 3 者複合体中における C34 の結合部位と完全にオーバーラップしていた. そのため, 4 者複合体中では, C34 が FL ドメインに形成されたポケットに結合できず, 後述するように, AMPcPP の近くに配置されていることが明らかとなった (図 6b).

9. agm²C 形成機構

3 者複合体と 4 者複合体では, C34 の結合位置がアグマチンの有無で大きく異なっていた (図 6b). 3 者複合体の構造では, C34 は FL ドメインに形成されたポケットに結合し, ATP の γ リン酸から距離にして 10 Å 程度離れてい

た。一方、4者複合体の構造では、FLドメインに形成されたこのポケットにはアグマチンが結合し、C34はAMPcPPの γ リン酸近傍 (3.1 Å) に配置されていた。TiaSはC34の2位カルボニル基をATPの γ リン酸基でリン酸化することから¹³⁾ (図2d), ATPの近傍にC34が配置された4者複合体の構造は、まさにC34をリン酸化する直前の状態と捉えることができる。これに対して、ATP γ リン酸からC34が隔離されている3者複合体の構造は、C34のリン酸化が起こりえないnon-productiveな状態と言える。

アグマチンとtRNA^{Ile2}の細胞内濃度は知られていないが、古細菌に豊富に含まれるプトレシンやスペルミジンという

ったポリアミンはアグマチンを介して生合成されることから、アグマチンの細胞内濃度はtRNA^{Ile2}のものよりも高いと推定される。また、TiaSがアグマチンとtRNA^{Ile2}に対して同程度の親和性を示す¹³⁾ことを考慮すると、TiaSはtRNA^{Ile2}と相互作用する前にすでにアグマチンと結合しており (図7a), tRNA^{Ile2}が結合すると同時にC34はATP γ リン酸の近傍に配置され、4者複合体にみられる構造をとると考えられる (図7d)。一方、アグマチンの供給が追いつかない場合に限り、TiaSはFLドメインに形成されたポケットにC34を一時的に捕まえ、ATPから隔離することでリン酸化中間体の形成を抑制していると思われる (図7b, c)。TiaSはアグマチンが存在しない場合でもATPを加水分解することから、常にC34をリン酸化しうる能力をもつ。したがって、アグマチンが不足する条件下で、3者複合体にみられる構造を形成することは、リン酸化中間体の蓄積を防止するという観点から重要な意味をもつ。また、この場合、アグマチンの供給に呼応してアンチコドン領域の構造が変化し、C34がATPの γ リン酸近傍に配置され、4者複合体にみられる構造をとると考えられる (図7c, d)。いずれの場合においても、アグマチンが結合することによってC34が活性部位に配置され、リン酸化に適した構造を形成する。つまり、アグマチンがTiaSおよびtRNAと協同して酵素反応のON/OFFを制御していると捉えることもできよう。C34はリン酸化された後、リン酸化Thr18との間の負電荷どうしの反発 (図7h) によってアグマチンの近傍に移動してくると予想され、その場において、アグマチンがリン酸化C34を求核攻撃してagm²Cが形成する (図7e~g)。これらを総合すると、決定した3者複合体および4者複合体の構造は、それぞれ“C34捕捉状態”および“リン酸化反応前状態”であると考えられ、タンパク質、RNAおよび低分子リガンドが協同しながらRNAの標的部位の構造を調節し、反応を前に進めていることが明らかになった。

図6 3者複合体および4者複合体構造の比較. (Structural comparison of the ternary and quaternary complexes.) (a) アグマチン結合部位のステレオ図. (b) 3者複合体構造におけるATPとC34の位置関係 (左図) と4者複合体構造におけるAMPcPPとC34の位置関係 (右図).

図7 agm²C形成のモデル. (Model for agm²C formation.)

10. おわりに

TiaS と tRNA^{Ile2} との複合体の結晶構造を解析し、単に酵素と基質 tRNA との相互作用機構がわかっただけでなく、低分子リガンドであるアグマチンが tRNA の構造を調節し、酵素反応の ON/OFF をコントロールするしくみが明らかとなった。低分子リガンドが RNA の構造を調節するという現象は、リボスイッチと呼ばれる原核生物のノンコーディング RNA で広く観察される。¹⁴⁾ リボスイッチは mRNA の 5' 側非翻訳領域にしばしば見られる特殊な RNA モチーフであり、アミノ酸や核酸塩基といった低分子化合物と結合することでその高次構造を大きく変え、その下流に位置する mRNA の転写を調節する。このように両者は、低分子リガンドと RNA との相互作用を介して、生体反応の ON/OFF を調節するという点で類似していると捉えることができよう。また、TiaS の立体構造を決定することにより、その N 末端ドメインに ATP が結合すること、そして、そのドメインがこれまでに例のない新規な ATP 加水分解モジュールであることをつきとめた。さらに、ATP 結合部位を構成する Thr18 がリン酸化されていることも構造解析によって初めて明らかとなるなど、agm²C 形成機構を解明するうえで結晶構造解析の果たした役割は大きい。結晶構造解析は「分子を見る」という点で非常に優れた手法である。一見すると単純な現象に思えても、実際に分子を見てみるとそこには想像もつかなかったメカニズムが存在し、われわれを驚かせてくれることがある。今後も、生体分子を見ることによって、そこに隠されている面白い現象を明らかにすることにわれわれの興味は尽きない。

謝 辞

共同研究者である東京大学大学院工学系研究科・鈴木勉先生ならびに鈴木研究室の木村 聡氏、寺坂尚紘氏に心より御礼申し上げます。

文 献

- 1) G. R. Björk: tRNA: Structure, Biosynthesis, and Function, p.165, American Society for Microbiology (1995).
- 2) T. Muramatsu, S. Yokoyama, N. Horie, A. Matsuda, T. Ueda, Z. Yamaizumi, Y. Kuchino, S. Nishimura and T. Miyazawa: *J. Biol. Chem.* **263**, 9261 (1988).
- 3) Y. Ikeuchi, S. Kimura, T. Numata, D. Nakamura, T. Yokogawa, T. Ogata, T. Wada, T. Suzuki and T. Suzuki: *Nat. Chem. Biol.* **6**, 277 (2010).
- 4) D. Mandal, C. Köhrer, D. Su, S. P. Russell, K. Krivos, C. M.

Castleberry, P. Blum, P. A. Limbach, D. Söll and U. L. RajBhandary: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **107**, 2872 (2010).

- 5) T. Muramatsu, K. Nishikawa, F. Nemoto, Y. Kuchino, S. Nishimura, T. Miyazawa and S. Yokoyama: *Nature* **336**, 179 (1988).
- 6) C. Köhrer, G. Srinivasan, D. Mandal, B. Mallick, Z. Ghosh, J. Chakrabarti and U. L. Rajbhandary: *RNA* **14**, 117 (2008).
- 7) A. Soma, Y. Ikeuchi, S. Kanemasa, K. Kobayashi, N. Ogasawara, T. Ote, J. Kato, K. Watanabe, Y. Sekine and T. Suzuki: *Mol. Cell* **12**, 689 (2003).
- 8) Y. Ikeuchi, A. Soma, T. Ote, J. Kato, Y. Sekine and T. Suzuki: *Mol. Cell* **19**, 235 (2005).
- 9) K. Nakanishi, L. Bonnefond, S. Kimura, T. Suzuki, R. Ishitani and O. Nureki: *Nature* **461**, 1144 (2009).
- 10) T. Osawa, S. Kimura, N. Terasaka, H. Inanaga, T. Suzuki and T. Numata: *Nat. Struct. Mol. Biol.* **18**, 1275 (2011).
- 11) S. Cusack, A. Yaremchuk, I. Krikiliviy and M. Tukalo: *Structure* **6**, 101 (1998).
- 12) S. Fukai, O. Nureki, S. Sekine, A. Shimada, D. G. Vassilyev and S. Yokoyama: *RNA* **9**, 100 (2003).
- 13) N. Terasaka, S. Kimura, T. Osawa, T. Numata and T. Suzuki: *Nat. Struct. Mol. Biol.* **18**, 1268 (2011).
- 14) E. Nudler and A. S. Mironov: *Trends Biochem. Sci.* **29**, 11 (2004).

プロフィール

沼田倫征 Tomoyuki NUMATA
産業技術総合研究所 バイオメディカル研究部門
RNA プロセッシング研究グループ
Biomedical Research Institute, National Institute of
Advanced Industrial Science and Technology (AIST)
〒305-8566 茨城県つくば市東 1-1-1 中央第 6-13
1-1-1 Higashi, Tsukuba-shi, Ibaraki 305-8566, Japan
e-mail: t-numata@aist.go.jp
最終学歴：九州大学大学院生物資源環境科学府博士課程
専門分野：生化学、構造生物学
現在の研究テーマ：RNA を中心とした生体高分子複合体の構造機能解析

大澤拓生 Takuo OSAWA
産業技術総合研究所 バイオメディカル研究部門
RNA プロセッシング研究グループ
Biomedical Research Institute, National Institute of
Advanced Industrial Science and Technology (AIST)
〒305-8566 茨城県つくば市東 1-1-1 中央第 6-13
1-1-1 Higashi, Tsukuba-shi, Ibaraki 305-8566, Japan
e-mail: taku-oosawa@aist.go.jp
最終学歴：九州大学大学院システム生命科学府博士課程
専門分野：生化学、構造生物学
現在の研究テーマ：原核生物における核酸タンパク質複合体の構造機能解析