

# 論文審査の結果の要旨

氏名 中川 裕文

本論文は 5 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、遺伝暗号の翻訳過程で働く tRNA および tRNA におこる修飾の重要性を解説している。次に、ウリジンおよびその誘導体の 2 位に起こる硫黄修飾( $s^2U$  修飾)について、その修飾が起こる部位、修飾の重要性について述べている。さらに実際に修飾を行う修飾酵素について、特に tRNA 硫黄修飾酵素の中で機能構造解析が詳しく行われていない、真核生物細胞質および古細菌の 34 位硫黄修飾と好熱菌特有に存在する T ループ 54 位硫黄修飾( $s^2T$  修飾)についての酵素側の共通点について説明している。それらを踏まえ、54 位の  $s^2T$  修飾に関わる TtuA、真核生物細胞質アンチコドン 34 位の  $s^2U$  修飾に関わる Ncs6・Ncs2 複合体および古細菌  $s^2U34$  修飾酵素の Ncs6 について、詳細な仕組みを明らかにするために機能構造解析を行う必要性について提起している。

第 2 章は  $s^2T54$  修飾酵素である TtuA の X 線結晶構造解析について述べている。論文提出者は、超好熱古細菌 *Pyrococcus horikoshii* 由来の TtuA ホモログの結晶が得られる条件を見つけ、X 線回折像を収集した。ヨウ素を用いた単波長異常散乱法により位相を決定し、分解能 2.1 Å の構造を決定した。その結果、TtuA は 2 量体を形成し、各サブユニットは N 末側の亜鉛フィンガー(Znf1)、ATP ピロフォスファターゼ触媒ドメイン、C 末側の亜鉛フィンガー(Znf2)から構成されていることを明らかにした。触媒ドメインの構造はリシジン修飾という違う修飾を行う TisS という酵素に最も相同性が見られ、TtuA と TisS の 2 量体化領域は共通していることを見出した。また、活性部位には ATP 結合部位や保存されたシステイン残基が存在し、これらの残基が修飾反応の過程において重要な役割を果たす可能性を提唱した。

第 3 章は、高度好熱菌 *Thermus thermophilus* を用いた、第 2 章で述べた *P. horikoshii* TtuA の構造をもとにした変異体解析について述べている。論文提出者は、TtuA 欠損株に TtuA 変異体を形質転換し、培養した菌体から tRNA を抽出し、HPLC を用いて  $s^2T$  修飾ヌクレオシド量の変化を調べた。その結果、活性部位に見られた 3 つのシステイ

ン残基は全てが TtuA による s<sup>2</sup>T に影響することを示した。また、予想された ATP 結合部位周辺の変異体解析も行ったところ、いくつかの残基では s<sup>2</sup>T 修飾に相当するピークが失われたことから、この部位も ATP の結合やアデニル化反応に関与している可能性を見出した。

第 4 章では、真核生物細胞質や古細菌におけるアンチコドン 34 位 s<sup>2</sup>U 修飾酵素の X 線結晶構造解析について述べている。論文提出者は、真核生物細胞質 Ncs6•Ncs2 複合体、および超好熱古細菌 *P. horikoshii* Ncs6 を組換えタンパク質として発現、精製する条件を確立した。*P. horikoshii* Ncs6 に関しては結晶が得られる条件を見だし、分解能 3.79 Å の回折データを収集して分子置換法により低分解能の構造を決定した。得られた構造から、Ncs6 は TtuA 同様 2 量体構造をしており、各サブユニットも同様に Znf1、触媒ドメイン、Znf2 の 3 つのドメインから構成されていることを明らかにした。また配列や構造の相同性から、Ncs6 においても同様の ATP 結合部位があること、3 つの保存されたシステイン残基が活性部位に存在することを見いだした。

第 5 章では、第 2 章から第 4 章の結果を踏まえた総合討論を行い、硫黄修飾の反応機構、tRNA の認識機構、TtuA と Ncs6 認識部位の違いといった点について議論している。

本論文に記載された研究は、TtcA ファミリーに含まれる TtuA や Ncs6 の構造について初めての報告で、また TtuA の変異体解析をもとにこれらのタンパク質の重要な部位を明らかにしたものであり、当該分野において生物学、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 章は、理化学研究所の横山茂之上席研究員、倉谷光央博士、関根俊一チームリーダー、伊藤拓宏ユニットリーダー、桂一茂博士、寺田貴帆博士、白水美香子グループディレクター、東京大学の伊藤(後藤)桜子博士との共同研究、第 3 章は産業技術総合研究所の鳴直樹博士との共同研究であるが、論文提出者が主体となって実験及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。