

研究課題別 事後評価結果

1. 研究課題名： 遺伝暗号翻訳装置の機能的統合および機能的分散の構造的基盤の解明

2. 研究代表者： 濡木 理（東京工業大学 大学院生命理工学研究科 教授）

3. 研究内容および成果：

本研究は、①遺伝暗号翻訳に働く酵素群が超分子複合体(MEC)を形成し、統合された一連の機能を果たすための構造的基盤の解明と、②アミノアシルtRNA合成酵素(aaRS)とその補因子が、恒常的なタンパク質生産を営みながら、機能的に分散して異常細胞のプログラム死・免疫系の活性化・組織の再形成に働く構造的基盤の解明を目的とした。本研究で得られた主な成果は、次の通りである。

- 1) 遺伝暗号翻訳のアダプタ分子として働くtRNAのプロセッシングおよび転写後化学修飾の過程に注目し、それぞれの過程で働くCCA付加酵素(RNAポリメラーゼ)およびMnmAチオ化ウリジン合成酵素とtRNA前駆体との複合体について、各反応ステップの複数の結晶構造(スナップショット)を決定することで、高精度・高特異的な化学反応において触媒として働く動的なメカニズムを原子分解能で明らかにし、動画として視覚化した。さらに、真核細胞やその祖先となる古細菌の翻訳系酵素は、複数のタンパク質がMECを形成し、統合された化学反応(チャネリング反応)において触媒として働くと考えられることを示した。
- 2) tRNAの化学修飾に働くチャネリング複合体(TusE-tRNA-MnmA、TYW1-4、boxC/DsnoRNP)およびaaRSのMARSの再構成と予備的な結晶化に成功し、構造学的研究を推進した。また、古細菌において3つの連続した化学反応において触媒として働き、Gln-tRNA^{Gln}を合成するGatDEアミド基転移酵素とtRNA^{Gln}との複合体のX線結晶構造解析を行い、統合された連鎖反応の触媒機構を明らかにし、さらにアンモニア分子を輸送する分子トンネルを明らかにした。
- 3) 真核細胞のMARSを構成するaaRSは、タンパク質合成に働くのみならず、細胞の状態に応じて細胞外に分泌され、細胞死、免疫系の活性化、細胞の分化に働く。本研究では、マクロファージの活性化やがん細胞の浸潤制御に働くヒト由来リジンtRNA合成酵素(hLysRS)、血管新生抑制や顕著な抗腫瘍活性を持つp43タンパク質の大量調製系を確立し、予備的な結晶化に成功した。なお、これらについては、さらにX線結晶構造解析を行い、MECの構成因子が分散して細胞外で他の機能を示すメカニズムを解明する予定である。
- 4) タンパク質が細胞内から膜を隔てた細胞外へ輸送される一般的なメカニズムを解明するために、細胞膜(真核細胞では小胞体膜)を介した新生ペプチドの輸送を行うMEC(この場合はトランスコロン)を構成する膜タンパク質であるSecYEとSecDFのX線結晶構造解析を行い、構造決定に成功した。真核細胞では小胞体、ゴルジ体を経た積荷タンパク質は輸送小

胞に包まれて輸送され、細胞膜上で開口放出される。本研究では、輸送小胞と細胞膜の融合を誘起するSec4p(Rab)GTPaseとそのGEF因子であるSec2pの複合体のX線結晶構造解析に成功し、Sec2pによるSec4pの動的な活性化機構を解明した。さらに、より一般的な膜輸送として、金属トランスポーターのX線結晶構造解析に成功し、金属イオンにより輸送孔の開閉が制御される仕組みを明らかにした。

4. 事後評価結果

4-1. 外部発表(論文、口頭発表等)、特許、研究を通じての新たな知見の取得等の研究成果の状況

期間中の外部発表、特許等の実績を示す。

発表論文:(邦文) 5 件/(英文) 21 件

口頭発表:(国内) 11 件/(海外) 9 件

特許出願:(国内) 0 件/(海外) 0 件

遺伝子暗号翻訳系酵素による高精度・高特異的な化学反応の各ステップについて、酵素複合体の結晶構造(スナップショット)を集め、反応の動的なメカニズムを動画として視覚化することに成功したことは、そのオリジナリティとともに高い評価に値する。

その成果は国際的に著名な学術誌等に多数報告されており、高く評価出来る。

4-2. 成果の戦略目標・科学技術への貢献

タンパク質複合体の結晶解析を通して、tRNAの末端CCA重合反応やtRNA部位特異的なチオウリジン合成反応の解析を行い、核酸とタンパク質が協同的に構造を変化させながら正確な化学反応を触媒していることを明らかにした。また、これらのタンパク質が細胞外へ輸送される分子機構についてもMECの結晶解析を行い、その機構を明らかにした。これらの成果は、個別の反応にとどまらず、生体反応全般の解明において重要であり、その科学的インパクトは極めて大きいと言える。

4-3. その他の特記事項(受賞等)

1) 受賞

平成 19 年 手島工業教育資金団手島記念研究賞

「Snapshots of tRNA sulphuration via an adenylated intermediate」

平成 19 年 文部科学大臣表彰科学技術賞(研究部門)

「高精度な化学反応を触媒する酵素の反応機構の研究」

2) 新聞報道

平成 18 年 7 月 3 日 日経産業新聞「アミノ酸の種類増加課程 原子レベルで解明」

平成 18 年 7 月 28 日 日経産業新聞「生体内の硫化反応 触媒結合の謎解明」

平成 19 年 8 月 17 日 フジサンケイビジネスアイ

「マグネシウム摂取の適量調整 東工大が機構解明」

他、多数の新聞に報道された

また、各反応ステップのスナップショットを集めてムービーとして視覚化する本研究は極めてユニークで世界的に注目されており、2007 年 3 月 29 日号の *Nature* に”Animated Crystallography”として紹介された。さらに、CCA 付加反応の動的機構では、著名なアメリカの教科書「Molecular Biology of the Cell(細胞の分子生物学)」(第 6 版)にムービーが掲載された。