

遺伝情報系と細胞シグナル系における超分子複合体の 立体構造と機能

Structural and functional studies on biological macromolecules
Involved in the flow of genetic information and the cellular signal
transduction

横山 茂之 (Shigeyuki Yokoyama)

東京大学・大学院理学系研究科・教授



研究の概要

複数の生体高分子のネットワークからなる遺伝情報発現および細胞シグナル伝達のシステムを原子レベルで理解するために、システムを構成する分子（タンパク質や核酸）の複合体の立体構造を解明し、相互作用の詳細を明らかにした。得られた構造情報を、人工遺伝暗号系の構築やゲノム創薬のための基盤の確立に応用した。

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物化学・構造生物学

キーワード：人工遺伝暗号、相互作用、結晶構造解析

1. 研究開始当初の背景・動機

近年の構造生物学の進歩は目覚ましく、生命現象を支える巨大な超分子複合体の立体構造解析も報告されるようになった。複数のタンパク質間の相互作用によっておりなされる生命現象の本質を原子レベルで解明できる時代になったといえる。

2. 研究の目的

このような状況をふまえ、多くのタンパク質（および核酸）が次々と相互作用のカスケードを展開することによって機能発現する典型的なシステムとして、セントラルドグマに沿った遺伝情報の複製・発現の過程および高等真核細胞のシグナル伝達経路を取り上げ、システムの原子レベルでの解明を目指した。

3. 研究の方法

主にX線結晶構造解析を用いてタンパク質・タンパク質ないしタンパク質・核酸複合体の立体構造を解明した。複合体間の相互作用のネットワークから、複雑な生物システムの機構の詳細を明らかにした。

4. 研究の主な成果

遺伝暗号の翻訳においてアミノ酸と tRNA を正確に対応づける役割を担うアミノアシル tRNA 合成酵素について、tRNA やアミノ酸、ないしは特異的阻害剤との複合体の結晶構造解析を行った。ロイシルおよびグルタミル tRNA 合成酵素について、tRNA との複合体の結晶構造解析を行い、酵素の可塑性と特異的認識機構を明らかにした。誤って導入されたアミノ酸を校正する機構をもつイソロイシル、バリル、フェニルアラニル tRNA 合成酵素について、校正ドメインの高分解能結晶解析を行い、校正機構の詳細を明らかにした。22 番目のアミノ酸として知られるピロリジンを tRNA に付加するピロリジル tRNA 合成酵素(PyIRS)のアミノ酸認識機構を明らかにした。また、ホスホセリル tRNA 合成酵素と tRNA との複合体の結晶構造解析に成功し、リン酸化セリンをタンパク質の部位特異的に導入する技術につながる基盤を確立した。

これまでに得られたアミノアシル tRNA 合成酵素についての知見を応用し、有用な

天然または非天然のアミノ酸を部位特異的にタンパク質に取り込ませる技術の開発を行った。まず、変異体チロシル tRNA 合成酵素(TyrRS)を作成し、ヨードチロシンをタンパク質に取り込ませることに成功した。この技術は、結晶構造解析における位相決定に利用できる。また、別の TyrRS 変異体を用い、パラベンゾイルフェニルアラニン(pBpa)を細胞内で標的タンパク質に導入する技術を開発した。タンパク質に取り込まれた pBpa は光照射によって近傍にある別のタンパク質と架橋を形成する。したがって、目的タンパク質と相互作用する未知の標的タンパク質の同定に役立つ。さらに、PylRS 変異体を用いて有用なリジン誘導体を動物細胞内で導入する技術を開発した。

tRNA の転写後修飾・プロセッシングを担う酵素群について結晶構造解析を行い、その作用機序を明らかにした。tRNA のアンチコドン 1 文字目(34 位)の修飾に関与する tRNA アデノシンデアミナーゼおよびリジン合成酵素の結晶解析を行い、反応機構を推定した。37 位の修飾を行う酵素については TYW1 および Trm5 の結晶構造を明らかにした。1-メチルグアノシンメチル基転移酵素である Trm5 については、tRNA との複合体の結晶構造解析に成功している。さらに、tRNA の L 字型コアへの修飾の導入に関わる Trm56 の構造解析に成功した。

ショウジョウバエにおいて生殖細胞の分化に関与している RNA ヘリケースである Vasa と RNA、ATP との三重複合体の X 線結晶構造解析に成功した。この構造を基に酵素の変異体解析を行い、DEAD-box RNA ヘリケースが RNA 二重鎖をほどく分子機構を明らかにした。

RNA ポリメラーゼと、緊縮調節で働くアラームの一種である ppGpp との複合体の結晶構造を決定し、ポリメラーゼの活性制御の分子基盤を明らかにした。さらに、減数分裂において染色体の相同組換反応をつかさどる Dmc1 の結晶構造を決定し、相同組

み換えの機構を解明した。

5. 得られた成果の世界・日本における位置づけとインパクト

上記の構造生物学的基礎研究の成果は、いずれも最先端のものであり、各分野の研究に今後の指針を与えるものである。20 種類の基本的なアミノ酸以外のアミノ酸を部位特異的にタンパク質に取り込ませる技術は世界的にも例のないものであり、生命科学の各分野への様々な応用が期待される。

6. 主な発表論文

(研究代表者は太字、研究分担者には下線)

Fukunaga, R. and **Yokoyama, S.** "Structural insights into the first step of RNA-dependent cysteine biosynthesis in archaea." *Nat Struct Mol Biol* 14(4): 272-9(2007).

Sengoku, T., Nureki, O., Nakamura, A., Kobayashi, S. and **Yokoyama, S.** "Structural basis for RNA unwinding by the DEAD-box protein Drosophila Vasa." *Cell* 125(2): 287-300(2006).

Fukunaga, R. and **Yokoyama, S.** "Aminoacylation complex structures of leucyl-tRNA synthetase and tRNA^{Leu} reveal two modes of discriminator-base recognition." *Nat Struct Mol Biol* 12(10): 915-22(2005).

Hino, N., Okazaki, Y., Kobayashi, T., Hayashi, A., Sakamoto, K. and **Yokoyama, S.** "Protein photo-cross-linking in mammalian cells by site-specific incorporation of a photoreactive amino acid." *Nat Methods* 2(3): 201-6(2005).

Kobayashi, T., Sakamoto, K., Takimura, T., Sekine, R., Kelly, V. P., Kamata, K., Nishimura, S. and **Yokoyama, S.** "Structural basis of nonnatural amino acid recognition by an engineered aminoacyl-tRNA synthetase for genetic code expansion." *Proc Natl Acad Sci USA* 102(5): 1366-71(2005).

Kinebuchi, T., Kagawa, W., Enomoto, R., Tanaka, K., Miyagawa, K., Shibata, T., Kurumizaka, H. and **Yokoyama, S.** "Structural basis for octameric ring formation and DNA interaction of the human homologous-pairing protein Dmc1." *Mol Cell* 14(3): 363-74(2004).

Artsimovitch, I., Patlan, V., Sekine, S., Vassilyeva, M. N., Hosaka, T., Ochi, K., **Yokoyama, S.** and Vassilyev, D. G. "Structural basis for transcription regulation by alarmone ppGpp." *Cell* 117(3): 299-310(2004).

ホームページ等

<http://www.biochem.s.u-tokyo.ac.jp/yokoyama-lab/>