



### 遺伝暗号誕生の足跡を残す化石分子の動作機構をはじめて解明 ～タンパク質の複合体である Transulfursome がカギ～

#### 研究成果のポイント

- ・メタン生成古細菌\*<sup>1</sup>における Cys-tRNA<sup>Cys</sup> の合成は、3つのタンパク質の複合体 (transulfursome) が行う。
- ・Transulfursome は、SepRS と SepCysS の2つの酵素と、その間を取り持つ SepCysE からなる。
- ・SepRS と SepCysS が働くためには、SepCysE の蝶つがい構造による大きな構造変化が必要。
- ・Transulfursome の動作メカニズムは、遺伝暗号誕生の過程に重要なヒントを与える。

#### 研究成果の概要

メタン生成古細菌では、Cys-tRNA<sup>Cys</sup> と呼ばれるアミノアシル tRNA は、アミノアシル tRNA 合成酵素(aaRS)によって直接合成されるのではなく、2段階の反応で合成されます(間接合成)。具体的には、まず酵素 SepRS がリン酸化セリン (Sep)を tRNA に結合して Sep-tRNA<sup>Cys</sup> を合成し、次いで、酵素 SepCysS が Sep-tRNA<sup>Cys</sup> を Cys-tRNA<sup>Cys</sup> に変換します。姚教授らの研究グループは、この2段階反応が SepRS と SepCysS に加えて第3のタンパク質 SepCysE を必要とし、これらからなる3元複合体によって効率的に行われることを発見し、この3元複合体を transulfursome (トランスサルファーソーム) と命名しました(図1)。

今回の研究では、X線構造解析を中心とする研究によって、transulfursome が機能するための動的な分子基盤を明らかにしました(図2)。transulfursome 複合体上では、SepRS の第1反応部位と SepCysS の第2反応部位は、約12ナノメートルも離れており、中間体である Sep-tRNA<sup>Cys</sup> が第1反応部位から第2反応部位へ移動するには、SepCysE が持つ2つの蝶つがい構造による大きな構造変化が必要です(図3)。この複合体の動作メカニズムは、遺伝暗号誕生の過程に関して重要なヒントを与えます。

#### 論文発表の概要

研究論文名: Structural basis for tRNA-dependent cysteine biosynthesis (tRNA依存的Cys生合成の分子基盤)

著者: 陳 美容<sup>(1)</sup>, 加藤公児<sup>(1,2)</sup>, 久保結女<sup>(1)</sup>, 田中良和<sup>(1,2,3)</sup>, Yuchen Liu<sup>(4)</sup>, Feng Long<sup>(5)</sup>, William B. Whitman<sup>(5)</sup>, Pascal Lill<sup>(6)</sup>, Christos Gatsogiannis<sup>(6)</sup>, Stefan Raunser<sup>(6)</sup>, 清水伸久<sup>(7)</sup>, 篠田 晃<sup>(2)</sup>, 中村彰良<sup>(8)</sup>, 田中 勲<sup>(2)</sup>, 姚 閔<sup>(1,2)</sup> (1 北海道大学大学院生命科学院, 2 北海道大学大学院先端生命科学研究所, 3JSTさきがけ, 4ルイジアナ州立大学, 5ジョージア大学, 6マックスプランク分子生物物理研究所, 7高エネルギー加速器研究機構, 8産業技術総合研究所)

## 研究成果の概要

### （背景）

DNA に刻まれた遺伝暗号（塩基配列）をもとにタンパク質が作られる仕組みは、細菌からヒトまで、地球上のすべての生物に共通しています。この塩基配列をタンパク質に変換する過程である「翻訳」を正確に行うためには、最初に 20 種のアミノ酸のそれぞれを転移 RNA (tRNA) という分子に正しく結合させる必要があります。

アミノ酸を tRNA に結合させる役割は、アミノアシル tRNA 合成酵素 (aaRS) と呼ばれる酵素が担っており、20 種のアミノ酸それぞれに対応して 20 種の aaRS が存在すると考えられてきましたが、ゲノムの研究が進み、生物によっては必要とされる aaRS が欠けている場合があることがわかってきました。このように aaRS が欠けている場合には、まず第 1 の酵素によって間違ったアミノ酸が tRNA に結合されますが、次に第 2 の酵素が、tRNA 上で、そのアミノ酸を正しいアミノ酸に変換します（間接合成経路）。メタン生成古細菌における Cys-tRNA<sup>Cys</sup> と呼ばれるアミノアシル tRNA の合成は、間接合成経路の一例であり、第 1 の酵素 SepRS がリン酸化セリン (Sep) を tRNA<sup>Cys</sup> に結合させて Sep-tRNA<sup>Cys</sup> を作り、次いで第 2 の酵素 SepCysS が、Sep-tRNA<sup>Cys</sup> を Cys-tRNA<sup>Cys</sup> へ変換します（図 1）。

姚教授らの研究グループは、最近、この 2 つの反応を効率よく進めるためには、第 3 のタンパク質 SepCysE が必要であることを発見しています。このような場合は、通常一つの aaRS が行う酵素反応を、SepRS, SepCysE, SepCysS の 3 つのタンパク質が 3 成分複合体 (transsulfursome と命名) を作って行っています。これは、遺伝暗号誕生の歴史を現在に伝える「化石」と考えられ、その反応メカニズムの解明を通して、遺伝暗号の誕生の謎に迫ることができると期待されています。しかし、これまで、これらの 3 つの酵素がどのように相互作用して、最終的に Cys-tRNA<sup>Cys</sup> を合成するか、その分子メカニズムは不明でした。

### （研究手法）

本研究では、SepRS, SepCysS, SepCysE, tRNA<sup>Cys</sup> のそれぞれの分子を精製し、それらの相互作用の詳細を、X線結晶構造解析法を使って解析しました。さらに、分子の動きを電子顕微鏡、X線小角散乱法、生化学的手法により研究しました。

### （研究成果）

SepRS と SepCysE の 2 成分複合体、及び SepCysE, SepCysS, tRNA<sup>Cys</sup> の 3 成分複合体の結晶化に成功し、それらの構造を、X線結晶構造解析法を使って解明しました。その結果、SepCysE は 2 つの蝶つがいにつながった 3 つの領域から構成されており、それぞれの領域が、SepRS, SepCysS, tRNA<sup>Cys</sup> のそれぞれの分子と結合することが明らかになりました（図 2）。さらに、X線小角散乱法、電子顕微鏡観察、その他の生化学的研究結果と組み合わせることで、Sep-tRNA<sup>Cys</sup> を第 1 の活性部位から第 2 の活性部位へ輸送する新しいメカニズムの存在が明らかになりました（図 3）。

### （今後への期待）

Transsulfursome による Cys-tRNA<sup>Cys</sup> の間接合成は、分子系統学的研究から、古代の Cys 生合成機構、

古代のアミノアシル化機構であると考えられています。今回、transsulfursome の分子メカニズムが解明されたことにより、遺伝暗号に関わる酵素の進化の一端に迫ることができました。今後、地球生命誕生の謎の解明、すなわち遺伝暗号がどのように誕生したのか、その謎の解明が一層進むことが期待されます。さらに本研究は、transsulfursome を利用した効率的な Cys 生合成技術の開発、リン酸化セリンをタンパク質の特定の場所に導入する技術の開発など、工業や医薬への応用展開も期待されます。

## お問い合わせ先

北海道大学大学院先端生命科学研究院 教授 姚 閔（やお みん）

TEL : 011-706-4481 FAX : 011-706-4905 E-mail : yao@castor.sci.hokudai.ac.jp

ホームページ : <http://altair.sci.hokudai.ac.jp/g6/index.html>

## 【参考図】

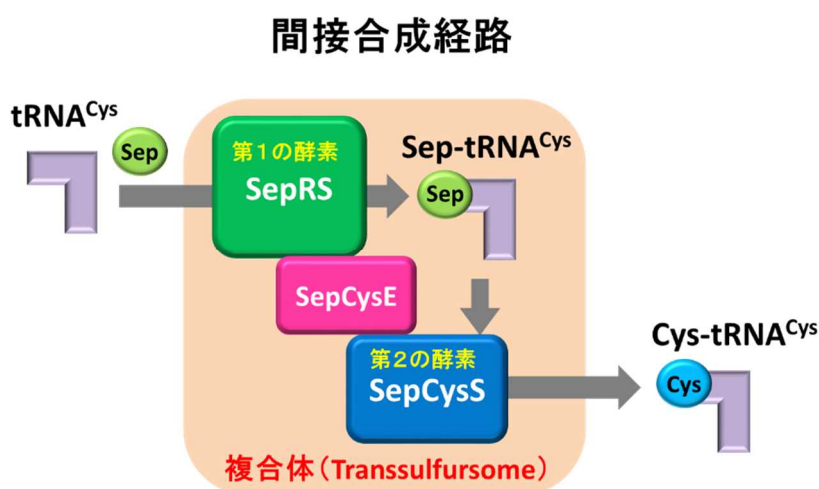


図1. 間接合成経路の概要。アミノアシル tRNA 合成酵素 CysRS が存在しないメタン生成古細菌では、Cys-tRNA<sup>Cys</sup> は、3つのタンパク質の複合体 (transsulfursome) により、2段階反応を経て、間接的に合成される。

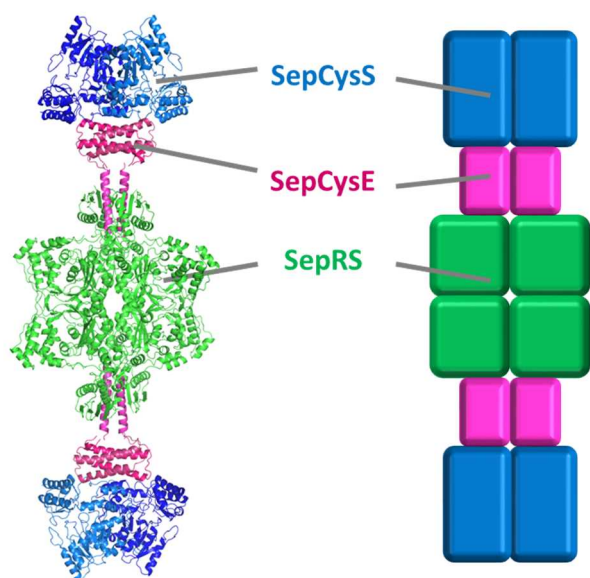


図2. Transsulfursome の立体構造 (左) とその模式図 (右)。中央の緑色は, Sep-tRNA<sup>Cys</sup> を作る酵素 SepRS の4量体\*<sup>2</sup>である。両端にある青色のそれぞれは, Sep-tRNA<sup>Cys</sup> を Cys-tRNA<sup>Cys</sup> に変換する酵素 SepCysS の2量体\*<sup>2</sup>である。ピンク色は SepRS と SepCysS の両タンパク質をつなぐ SepCysE である。Cys 遺伝子を翻訳するのに必要な CysRS は, このような複雑な複合体を経て今日の形に進化したものと推定される。

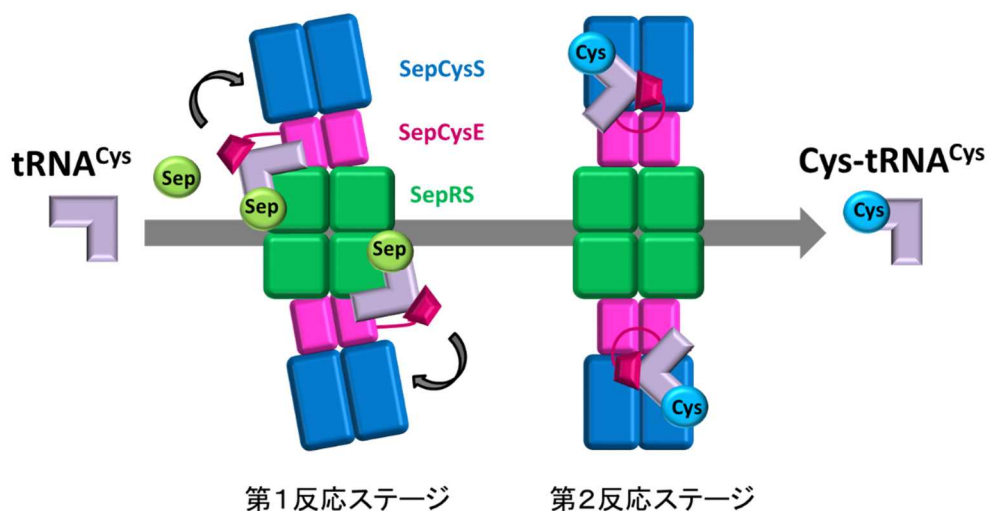


図3. 明らかになった Transsulfursome の tRNA 輸送機構。SepRS により作られた Sep-tRNA<sup>Cys</sup> は, SepCysE の大きな構造変化によって, 第1の反応部位 (緑色) から第2の反応部位 (青色) へ輸送される。

【用語解説】

- \* 1 古細菌 … 細菌とは区別される原核生物で, 高熱・高塩濃度下など特殊な環境で生育する細菌の総称。メタン生成細菌, 高度好塩菌など 100 種類以上が知られている。
- \* 2 多量体 (4量体, 2量体) … 複数のユニットから構成される集合体のこと。4つのユニットからなる集合体を4量体, 2つのユニットからなる集合体は2量体と呼ぶ。