

蛋白質とRNAとの協同作業による特異性の決定

鋳型非依存性RNA合成酵素の分子的基盤

通常、生体内において、定まった配列をもった核酸の合成には、核酸合成酵素であるRNAあるいはDNAポリメラーゼは、合成する配列に相補的な核酸の鋳型を必要とする。しかし、CCA付加酵素と呼ばれる転移RNAの3'末端に普遍的に存在するC-C-A (Cytidine-Cytidine-Adenosine位置74, 75, 76) 配列を付加、合成する酵素は核酸の鋳型を使用しない。CCA付加酵素は定まった配列を核酸の鋳型を用いることなく合成できる唯一の鋳型非依存性RNA合成酵素である。1970年代に、この酵素活性が同定されて以来、三十年もの間、この酵素が核酸の鋳型を用いることなく定まった配列を合成する分子機構については未解決であった。我々は、この問題点を、CCA付加酵素(実際にはA付加酵素)、末端のAが欠けた転移RNAそして付加されるヌクレオチド(ATPのアナログ)の三者複合体のX線結晶構造解析、さらにその構造を基にした機能解析によって、その分子機構の一端を明らかにした。

構造・機能解析の結果、付加されるATPの塩基は転移RNAの3'末端のC75の塩基とスタッキング相互作用をし、さらに特異的なアミノ酸残基と“ワトソン・クリック”様水素結合をして認識されていた。これは転移RNAの

3'末端と特定のアミノ酸残基とが協同でATPの結合サイトを形成していることを示している。さらに、結合したATPの塩基はC75の塩基部分の他に、核酸の塩基を模倣しているアミノ酸残基とスタッキング相互作用をし、連続する“スタッキングアーク”を形成していることが示された。また、転移RNAの3'末端のC-C配列は、特異的なアミノ酸残基で形成される相補的ポケットによって認識されており、特にC75の塩基部分は特定のアミノ酸残基と“ワトソン・クリック”様水素結合をして認識されていた。これらは、核酸を鋳型として用いる通常のDNAあるいはRNA合成酵素の核酸性の鋳型をCCA付加酵素では蛋白質が擬態していることを示している。

このように三者複合体の構造解析を行うことによって、“核酸と蛋白質とが協同して鋳型を形成して反応の特異性を規定している”という知見が得られた。我々の鋳型非依存性RNA合成酵素であるCCA付加酵素の分子機構の研究は、鋳型非依存性RNA合成酵素の分子的基盤を提示したのみならず、核酸と蛋白質の複合体による機能発現システム、核酸から蛋白質への機能委譲システムの構築原理の一端を提示したといえよう。

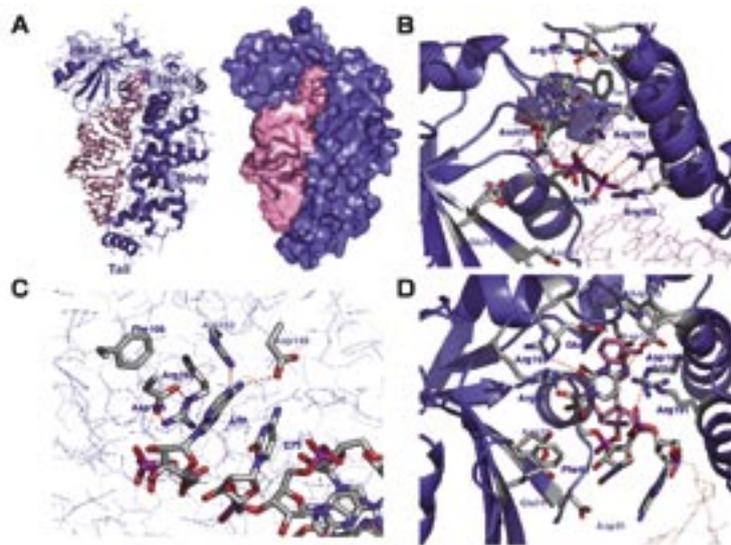


図 A : CCA付加酵素、転移RNA、付加されるヌクレオチド(ATPアナログ)三者複合体の構造(青:酵素、ピンク:転移RNAの上腕部)。B : 特異的なアミノ酸残基と転移RNAの3'末端によって形成される鋳型によるATP認識。C : 蛋白質と核酸によるスタッキングアークの形成、D : 特異的なアミノ酸残基による転移RNA 3'末端の認識。



とみたこうぞう
富田耕造
kozo-tomita@aist.go.jp
生物機能工学研究部門

関連情報

- 協同研究者：深井周也、瀧木理(東京工業大学大学院)。
- K. Tomita, A. M. Weiner: Science, Vol. 294, 1334-1336 (2001)。
- K. Tomita, A. M. Weiner: J. Biol. Chem., Vol. 277, 48192-48198 (2002)。
- K. Tomita, S. Fukai, R. Ishitani, T. Ueda, N. Takeuchi, D. G. Vassilyev, O. Nureki: Nature, Vol. 430, 700-704 (2004)。