

核酸性鋳型なしRNA合成反応の動的分子基盤

産業技術総合研究所 生物機能工学研究部門

富田 耕造

すべての tRNA の 3' 末端には普遍的に CCA 配列 (位置 74,75,76) が存在する。この CCA 配列は、アミノアシル tRNA 合成酵素による 3' 末端へのアミノ酸付加、リボソーム上での、ペプチド形成反応に重要な役割を果たしている。CCA 配列は、CCA 付加酵素 [ATP(CTP)-tRNA nucleotidyltransferase] によって合成、あるいは修復される。CCA 付加酵素は、唯一、核酸性の鋳型を用いることなく定まった配列 (CCA) を定まった RNA プライマー (tRNA) の 3' 末端へ付加するユニークな鋳型非依存性 RNA 合成酵素である。CCA 付加酵素が核酸性の鋳型を用いずに定まった配列を特異性を切り替えながら合成する分子機構に関して、いくつかのモデルが提唱されてきたが、30年もの間、その詳細な分子機構は未解決であった。

我々は、古細菌由来 CCA 付加酵素による RNA プライマー 3' 末端への CCA 配列付加反応の開始、伸長、終結を表した、連続した複数の構造を X 線結晶構造解析によって決定し、CCA 付加反応における酵素、RNA の動的分子基盤を明らかにした。その結果、C 付加反応においては、付加される CTP によって酵素は「開いた」構造から「閉じた」構造への変化が誘導され、それに伴って RNA の 3' 末端ヌクレオチドが反転し、反応が進行する「活性型」へ移行して、CTP が付加されることが明らかになった。これは RNA プライマーが酵素へ結合した時点ではヌクレオチド特異性が決定されておらず、ヌクレオチド (CTP) によって誘導される酵素、RNA の動的要素によって特異性が決定されていることを示唆する。一方、ふたつ目の C 付加反応後は、酵素は「閉じた」活性型構造に固定化され、ATP が結合すればそのまま反応が進行し、動的な CTP 選択反応とは対照的に、RNA プライマーが結合することによってのみ ATP の選択性が決定されていることが明らかになった。また、CCA 付加反応全過程において、RNA プライマーは酵素のテールドメインと結合しており、この相互作用が CCA 配列合成反応の終結を保証していることが明らかになった。