

令和元年 10月 31日
愛媛大学
高エネルギー加速器研究機構

遺伝情報の読み取りを強化する tRNA のメチル化の仕組み を構造解析と生化学解析により解明

真核生物 Trm7-Trm734 複合 tRNA メチル化酵素の基質 tRNA 選択性とサブユニットの役割

【概要】

愛媛大学と高エネルギー加速器研究機構の研究グループは共同で、真核生物 tRNA のアンチコドン一文字目のリボースをメチル化する Trm7-Trm734 複合体の構造解析を行ない、その構造をもとに、この複合体が特定の tRNA のみをメチル化する仕組みや各サブユニットの役割を、分子・原子レベルで解明することに成功しました。本研究の成果は、2019年10月5日に英国の Oxford University Press が発行する科学誌 Nucleic Acids Research 電子版に先行掲載されました。

【詳細】

DNA 上にコードされた遺伝情報は、メッセンジャーRNA (mRNA)*¹ に写し取られ、タンパク質合成の際に、トランスファーRNA (tRNA)*² によって読み取られます。tRNA の遺伝暗号解読部位 (アンチコドン) 一文字目 (34位*³) のリボースのメチル化*⁴ は、すべての生物に共通にみられる現象で、tRNA と mRNA の結合を強化し、タンパク質合成の途中でエラーが起こる頻度を低下させます。ヒトをはじめ真核生物では、Trm7-Trm734 タンパク質複合体がこのメチル化を担いますが、どうして、この複合体が特定の tRNA のみをメチル化するのか、Trm734 は tRNA の 34 位のリボースをメチル化する上でどのような役割を担っているのかなどが不明でした。

これらの問題を解決すべく、愛媛大学大学院理工学研究科 堀弘幸教授、平田章講師、大学院生の岡田圭祐さん、吉井一晃さん、学部生の白石裕之さんの研究グループは Trm7-Trm734 の X 線結晶構造解析*⁵ を行ない、高エネルギー加速器研究機構 物質構造科学研究所 清水伸隆教授、西条慎也特任助教 (研究当時)、米澤健人研究員と共同で X 線小角散乱*⁶ の測定を行いました。これらの構造情報をもとに生

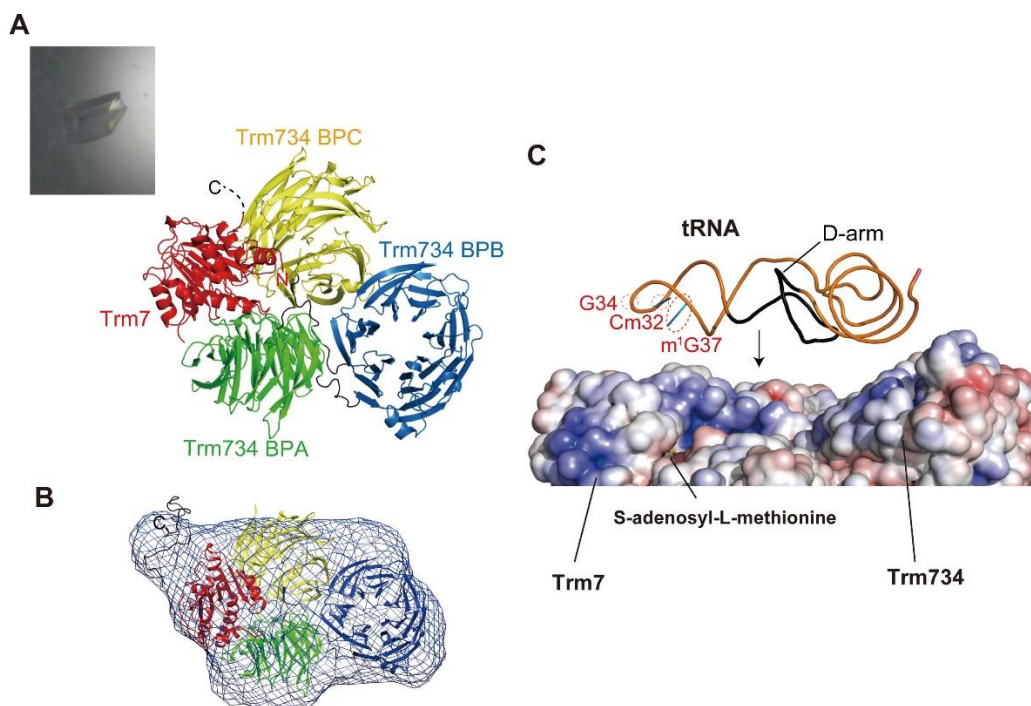


愛媛大学の先端研究が世界をリードします！

<https://research.ehime-u.ac.jp/>

学解析を行ない、(1) Trm7-Trm734 は Cm32, m1G37、ピリミジン 34 の 3 つの因子のうち最低 2 つの因子を持つ tRNA を優先的にメチル化すること、(2) Trm734 は 3 つの WD40 β プロベラドメイン*7 となり、ロスマンフォールド型*7 触媒ドメインを持つ Trm7 と前例がない結合様式で複合体を形成すること、(3) メチル化には、tRNA の D-arm 構造が必要なこと、(4) X 線小角散乱の測定結果から、Trm7-Trm734 は水溶液中でもヘテロ二量体を形成していること、(5) Trm734 は tRNA を捉まえ、触媒サブユニット Trm7 と tRNA を接触させる役割があることなどを解明しました。これら一連の研究成果により、長年、生化学・分子生物学分野で課題であった Trm7-Trm734 の基質 tRNA 特異性が分子・原子レベルで説明可能になり、Trm734 の役割も明らかとなりました。

ヒトでは、tRNA のアンチコドン一文字目のリボースのメチル化の欠損は X 染色体リンク精神発達遅滞*8 という遺伝形質を引き起こします。したがって、本研究で得られた研究成果は、ヒト遺伝形質の発現の理解、新たな遺伝子診断法や遺伝子治療法の開発にも新知見を与えるものです。



図：Trm7-Trm734 の構造と tRNA との相互作用モデル

(A) Trm7 (赤) はロスマンフォールド型触媒ドメイン*7を持つ。一方、Trm734 は、3つの WD40 β -プロベラドメイン[各々、BPA (緑)、BPB (青)、BPC (黄) と表示]から成る。Trm7 は、Trm734 の 2 つの WD40 β -プロベラドメインに挟み込まれており、この結合様式は他の WD40 β -プロベラドメインタンパク質では発見されていない。インセットは、Trm7-Trm734 の結晶。(B) X 線小角散乱から計算された分子概形 (青の網掛け) は、X 線結晶構造と一致する。この結果は、水溶液中でも Trm7-Trm734 がヘテロ二量体を形成していることを示す。(C) 表面電荷図 (赤は酸性、青は塩基性領域を示す) を用い、Trm7-Trm734 の塩基性領域に tRNA の立体構造をあてはめると、tRNA 上の主な認識部位 (D-arm, Cm32, m1G37) は Trm7-Trm734 側に配置され、メチル化部位 (この tRNA では G34 のリボース) は Trm7 に結合したメチル基供与体・S-アデノシル-L-メチオニンに接近する。このモデルから、Trm734 は基質 tRNA を捉まえ、メチル基供与体の結合した Trm7 に tRNA を接触させる役割があることが判った。



愛媛大学の先端研究が世界をリードします！

<https://research.ehime-u.ac.jp/>

【論文情報】

掲載誌：Nucleic Acids Research

題名：Structure of tRNA methyltransferase complex of Trm7 and Trm734 reveals a novel binding interface for tRNA recognition (tRNA メチル化酵素・Trm7-Trm734 の構造は、この複合体が tRNA を認識する新規な結合表面を持つことを証明する)

著者：Akira Hirata, Keisuke Okada, Kazuaki Yoshii, Hiroyuki Shiraishi, Shinya Saijo, Kento Yonezawa, Nobutaka Shimizu and Hiroyuki Hori

DOI：doi: 10.1093/nar/gkz856.

URL：<https://academic.oup.com/nar/advance-article/doi/10.1093/nar/gkz856/5581736>

【研究サポート】

本研究の X 線結晶構造解析と X 線小角散乱のデータ収集は、大型放射光施設 SPring-8 のビームライン BL26B1, BL38B1, BL45XU および高エネルギー加速器研究機構 放射光実験施設フォトンファクトリーのビームライン BL-10C で行い、生化学実験の一部は、愛媛大学学術支援センターの共同機器を利用しました。

本研究の一部は、日本学術振興会・科学研究費補助金の他、国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED) 創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業・創薬等先端技術支援基盤プラットフォーム (BINDS) の課題番号 JP19am0101071 の支援を受けました (支援番号 0997)。

【用語解説】

* 1 メッセンジャーRNA (mRNA)

タンパク質に変換される遺伝情報を持つ RNA

* 2 トランスファーRNA (tRNA)

mRNA 上の遺伝暗号 (コドン) を読み取り、タンパク質合成に必要なアミノ酸を、タンパク質合成装置 (リボソーム) へ供給する役割を持つ。

* 3 tRNA のヌクレオチドの位置の表記

標準的な tRNA は 76 ヌクレオチドで構成される。各ヌクレオチドは 5'末端側から数える。遺伝暗号解読部位 (アンチコドン) の一文字目は 34 番目なので、34 位と呼ばれる。



愛媛大学の先端研究が世界をリードします！

<https://research.ehime-u.ac.jp/>

* 4 tRNA のメチル化

tRNA は最も高頻度にメチル化される RNA。タンパク質合成の効率や精度を上げたり、読み取る遺伝暗号の種類を変えたり、tRNA の立体構造維持に必要であったり、様々な役割を持つ。本文中の Cm、m1G は、いずれもメチル化されたヌクレオシドの一種。近年、ヒトでは tRNA のメチル化が遺伝性疾患や発がんと密接に関係することが、多数、報告されている。

* 5 X 線結晶構造解析

結晶は、原子や分子が立体的に規則正しく特定のパターンで繰り返し並んでいる状態の物質。結晶に X 線を照射して散乱された X 線を観測することで、結晶中に含まれる分子の立体構造を明らかにできる手法。結晶中という特殊な状態ではあるが、原子を一つ一つ判別できる分解能（原子分解能）で構造情報を得ることができる。

* 6 X 線小角散乱

結晶状態にない物質の構造を解析する方法の一つ。本研究では、溶液試料中の分子に X 線を照射して散乱された X 線を観測し、分子のおおよその形（形状）を明らかにした。分解能は高くないが、溶液中という実際の生体内に近い条件で測定することができる。

* 7 WD40 β プロペラドメインとロスマンフォールド型触媒ドメイン

いずれも、立体構造に基づくタンパク質の機能単位。WD40 β プロペラドメインは、核酸関連タンパク質にしばしば見られる。一方、ロスマンフォールド型触媒ドメインは、tRNA メチル化酵素だけではなく、DNA やタンパク質のメチル化酵素にもよく見られ、S-アデノシル-L-メチオニンからメチル基を転移する酵素活性を担う。

* 8 X 染色体リンク精神発達遅滞

ヒトの場合、FTSJ1 というタンパク質が Trm7 に相当する（Trm7 のオーソログである）。FTSJ1 遺伝子は、X 染色体上にコードされており、FTSJ1 の変異による tRNA のアンチコドン一文字目のリボースのメチル化の欠損は、精神発達遅滞を伴性遺伝の形で引き起こす。



愛媛大学の先端研究が世界をリードします！

<https://research.ehime-u.ac.jp/>

【本件に関する問い合わせ先】

<研究に関すること>

愛媛大学理工学研究科教授 堀 弘幸

Tel : 089-927-8548

E-mail : horii.hiroyuki.my@ehime-u.ac.jp

<報道担当>

愛媛大学総務部広報課

Tel : 089-927-9022

Fax : 089-927-9052

E-mail : koho@stu.ehime-u.ac.jp

大学共同利用機関法人 高エネルギー加速器研究機構

広報室長 引野 肇

Tel : 029-879-6047

Fax : 029-879-6049

E-mail: press@kek.jp



愛媛大学の先端研究が世界をリードします！

<https://research.ehime-u.ac.jp/>