

Structural insight into ribonuclease P (RNase P) from the hyperthermophilic archaeon *Pyrococcus horikoshii* OT3

高, ？柱

<https://hdl.handle.net/2324/1931745>

出版情報：九州大学，2017，博士（システム生命科学），課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（4）



氏 名	高 緒柱				
論 文 名	Structural insight into ribonuclease P (RNase P) from the hyperthermophilic archaeon <i>Pyrococcus horikoshii</i> OT3 (超好熱性アーキアリボヌクレアーゼ P (RNase P) の構造に関する研究)				
論文調査委員	主 査	九州大学	職名	教授	氏名 角田 佳充
	副 査	九州大学	職名	准教授	氏名 田代 康介
	副 査	九州大学	職名	准教授	氏名 片倉 喜範

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

リボヌクレアーゼ P (RNase P) は、前駆体 tRNA の 5' 末端余剰配列のプロセッシングを触媒するエンドヌクレアーゼで、RNA とタンパク質からなるリボ核タンパク質酵素である。超好熱性アーキア (*Pyrococcus horikoshii* OT3) RNase P RNA (*Phop*RNA) は、それ自身では触媒活性を示さず、5 種のタンパク質 (*Pho*Pop5、*Pho*Rpp21、*Pho*Rpp29、*Pho*Rpp30、*Pho*Rpp38) との相互作用によりその触媒活性が活性化される。既に、各タンパク質の結晶構造と *Phop*RNA のモデル構造、各タンパク質の機能について情報が集積している。本論文では、超好熱性アーキア *P. horikoshii* RNase P の高次構造モデル (3-D モデル) を構築するとともに、*P. horikoshii* RNase P の再構成酵素を精製し、その構造を動的光散乱、X 線小角散乱、透過型電子顕微鏡、および結晶学的手法により検討している。

まず、各タンパク質の結晶構造と各タンパク質と *Phop*RNA の相互作用部位に関する情報に基づき、*P. horikoshii* RNase P の 3-D モデルを構築している。その結果、*P. horikoshii* RNase P は 1 分子の *Phop*RNA に 2 分子のタンパク質複合体・*Pho*Pop5-*Pho*Rpp30、1 分子のタンパク質複合体・*Pho*Rpp21-*Pho*Rpp29、および 3 分子の *Pho*Rpp38 が結合し、その分子量約 250 kDa で、サイズは 185 Å x 85 Å x 85 Å であることを提示している。

次に、*P. horikoshii* RNase P の高次構造情報を得るために、再構成酵素を各種液体クロマトグラフィーにより精製し、その分子サイズを動的光散乱および X 線小角散乱により検討している。その結果、動的光散乱より単一のピークが検出され、直径約 16 nm の粒子であると推定している。一方、X 線小角散乱によるギニエプロットおよび P_r 関数を求めたところ、その回転半径約 80 Å であることを示唆している。続いて、再構成酵素の構造をネガティブ染色法による透過型電子顕微鏡で解析したところ、最大長約 19 nm の縦長の分子を見出している。そこで、106 枚の画像より 13,229 粒子を選択し、133 個の平均画像が得て、これらの情報を基に三次元再構成モデルを作製している。その結果、*P. horikoshii* RNase P は 185 Å x 95 Å x 95 Å のサイズで、*P. horikoshii* RNase P の 3-D モデル構造と良く一致していることから、今後、クライオ電子顕微鏡による単粒子構造解析が、*P. horikoshii* RNase P の高次構造解析に有効であることを示唆している。

一方、結晶学的解析では、*Pho*Pop5-*Pho*Rpp30 複合体および *Pho*Rpp21-*Pho*Rpp29 複合体のそれぞれの *Phop*RNA 結合部位を含む RNA 断片 (P3 と P10/P12) との結晶化を試みている。その結果、*Pho*Rpp21-*Pho*Rpp29 複合体については、P10/P12-*Pho*Rpp21-*Pho*Rpp29-*Pho*Rpp38 複合体を精製し、その結晶化を試みたところ、最大分解能 6.35 Å までの回折パターンを示す結晶を得ている。

最後に、*P. horikoshii* RNase P の 3-D モデルを真正細菌 RNase P の結晶構造と比較したところ、真正細菌の RNase P RNA において触媒部位と基質結合部位の構造形成に関わっている RNA-RNA 相互作用が、アーキアでは *Pho*Pop5-*Pho*Rpp30 と P3 および P16 との相互作用、および *Pho*Rpp21-*Pho*Rpp29 と P11-P12 間のループとの相互作用に置き換わっていることを示唆し、RNA 酵素からリボ核タンパク質酵素への分子進化について考察している。

以上の結果は、超好熱性アーキアリボタンパク質酵素・RNase P の高次構造情報を提示するとともに、真核生物の RNase P についても基礎情報を提供するもので、構造生物学の分野において価値ある業績であると認められる。

よって、本研究者は博士 (システム生命科学) の学位を受ける資格があるものと認める。

