

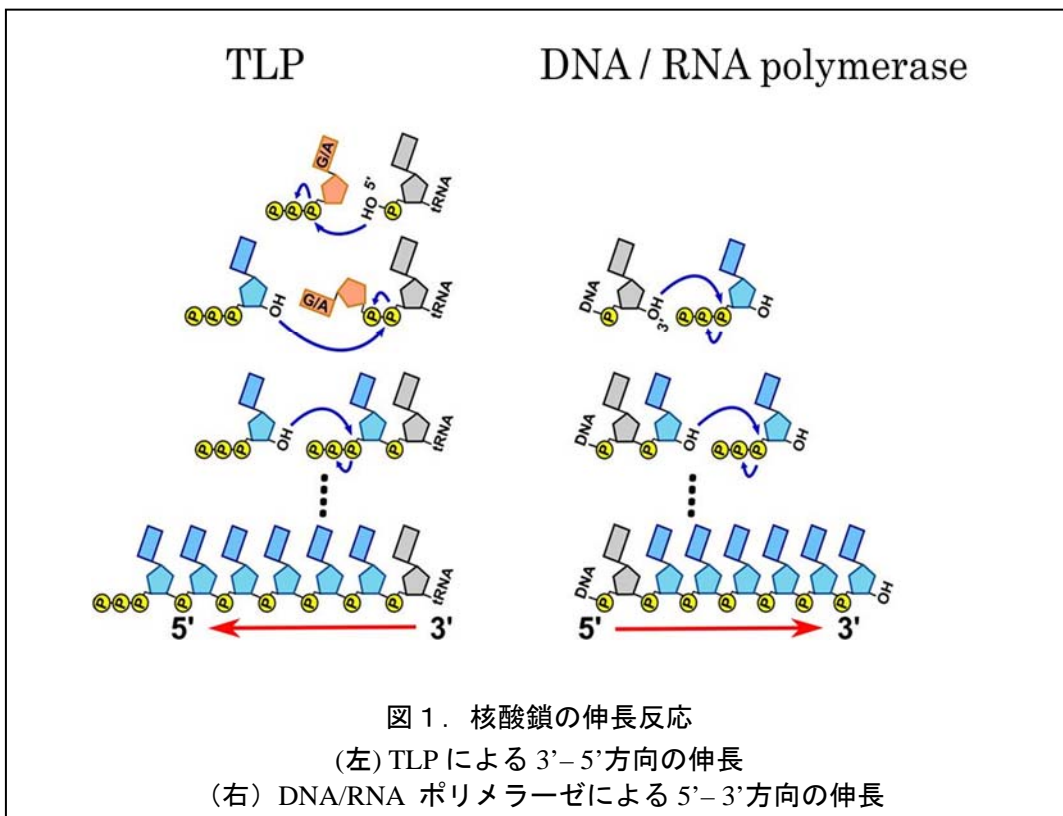
# 核酸を逆方向に伸長させる反応の現場を捉えることに成功

*Science Advances* 2, e1501397 (2016)

## 研究背景

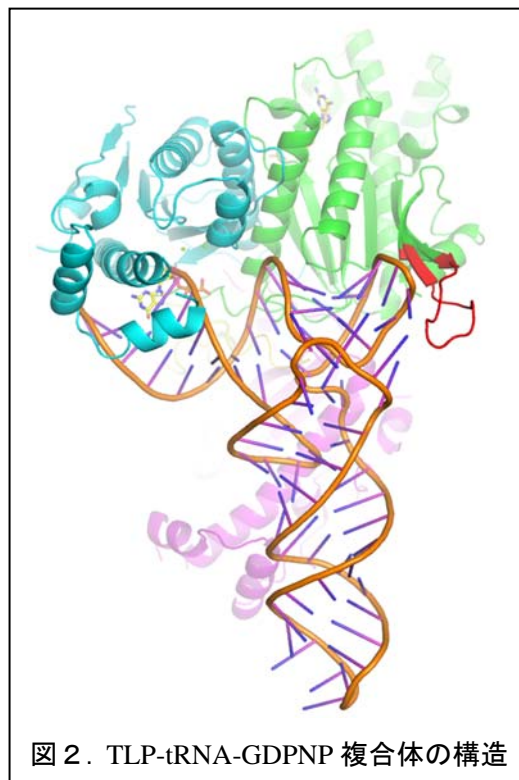
DNA は長い鎖状の分子ですが、それを合成する際の鎖の伸長方向は、一方向 (5'-3'方向) に決まっています (図 1 右)。このことは逆向きに並んでいる 2 本鎖 DNA を複製する際に問題となります。複製時には、2 本の鎖をほどこきながら、それぞれの鎖を鋳型としてもう一方の鎖がつくられるのですが、その際、一本の鎖は末端から連続的に伸ばすことができますが、他方の鎖は、向きが逆なのでそれができないのです。そこで、短い DNA 断片 (岡崎フラグメント) が合成され、それをつなぎ合わせることで長い鎖を完成させています。自然はなぜそのような煩雑な方法を選択したのかは謎です。

一方、DNA と RNA は分子構造が非常に良く似ていますが、一部のバクテリアには、転移 RNA を逆向き (3'-5'方向) に伸長させる酵素が存在していることが近年明らかになっていました。これは、損傷を受けた転移 RNA を鋳型依存的に修復する TLP (Thg1-like protein ; Thg1 様タンパク質) と呼ばれる酵素です (図 1 左)。この 3'-5'方向へ伸長する能力を持つ RNA polymerase の発見は生命の誕生に関連して極めて興味深いものであり、その反応機構の解明は、自然界ではなぜ逆方向の伸長が選ばれなかったかという謎の解明につながるものとして期待されています。



## 研究成果

私たちは真菌由来の組み換えタンパク質 TLP と *in vitro* 転写で合成した tRNA 損傷の反応中間体 ppp-tRNA<sup>phe</sup>( $\Delta$ 1) を用いて複合体 TLP-ppp-tRNA<sup>phe</sup>( $\Delta$ 1) を再構成し、複合体 TLP-ppp-tRNA<sup>phe</sup>( $\Delta$ 1) と、修復反応に必要な 2 個目の GTP (付加用の部品) のアナログ GDPNP を加えた複合体 TLP-ppp-tRNA<sup>phe</sup>( $\Delta$ 1)-GDPNP の立体構造を X 線結晶構造解析法により明らかにしました (図 2)。得られた複合体の構造情報と TLP および tRNA の変異体の結合実験、および RI でラベルした活性測定を組み合わせ、TLP の反応現場をはじめ捉えることに成功しました (図 3)。逆向きに鎖を伸ばすためには、反応に必要なエネルギーを獲得するために正方向に相当する反応も必要ですが、この TLP という酵素には、正方向の反応と逆方向の反応を切り替えるための巧みな仕組みが存在していました。逆方向に鎖



を伸ばすためには、まずエネルギー分子である ATP や GTP を結合させ、正方向に相当する反応 (活性化反応) を行い (図 3 左下の左)、次いで、伸長に必要なヌクレオチド分子を取り込むと同時に、核酸の鎖が自然に曲がることを利用して、逆方向の反応に切り替えていました (図 3 左下の右)。逆方向反応が選ばれなかった理由は、そのような複雑な仕組みが必要であったためと言えますが、複雑であるとはいえ、自然はそのような酵素を作り上げていたのです。この研究により、核酸を逆方向に伸ばすためにはどのような仕組みが必要なのか、その分子機構の詳細が明らかになり、自然はなぜ逆方向の伸長を選ばなかったのか、その謎の解明に向けて大きく前進することができました。

## 今後への期待

この機構が 2 本鎖 DNA を複製する際に使われなかったのはなぜなのか、それを説明するためには、核酸合成機構と本酵素の合成機構を詳細に比較検討する必要があります。本研究により、そのような研究が可能になったことで、地球の生命体がすべて共通に持っている DNA 複製の謎の解明にまた一歩近づくことができました。核酸を逆方向に伸ばす酵素は、この TLP ファミリータンパク質以外には存在していません。今回、反応機構が完全解明されたことで、今後、核酸鎖を逆方向に伸ばす酵素としての応用も期待されます。

