

RNA 上の遺伝情報を書き換える酵素である DYW ドメインの構造を解明

—植物オルガネラ RNA 編集のユニークな活性制御—

概要

DNA に含まれる遺伝情報に重大な間違いが蓄積すると、やがて生物は生きていけなくなります。しかし、陸上植物の葉緑体とミトコンドリアがもつ独自のゲノム DNA 中には、遺伝情報の間違いが何百ヵ所も蓄積されています。それでも植物が正常に生育できるのは、この間違いを正確に訂正するために、DNA ではなく、その情報がコピーされた RNA を書き換える「RNA 編集」という独自の機構をもっているためです。これまで、植物オルガネラ（葉緑体やミトコンドリアなど細胞内小器官のこと）における RNA 編集酵素の反応機構はよくわかっていませんでした。

今回、京都大学理学研究科 竹中瑞樹 准教授、竹中佐知 同技術補佐員、Brody Frink 同博士課程学生とドイツ Helmholtz センターの Gert Weber 研究員を中心とするグループは、ドイツの Greifswald 大学、Ulm 大学、Bonn 大学と共同で、葉緑体の RNA 編集因子の一部であり、RNA 配列中の特定のシチジン (C) をウリジン (U) に書き換える酵素である DYW ドメイン^(注1) の、活性型および非活性型の立体構造をはじめて明らかにしました。

非活性型 DYW ドメインでは、内部の「ゲーティング (門) ドメイン」^(注2) が活性中心に覆いかぶさり、標的となる RNA との接近を妨げていました。これが ATP などの核酸存在下では活性型に変わります。すると、ゲーティングドメインは、つまみスイッチのようにひねられ、活性中心付近に RNA が収まる空間が生じます。また活性中心の構造も変化し、アミノ酸残基—亜鉛—水分子の距離が接近することにより触媒反応のスイッチが入ります。このユニークな機構は、ATP 合成を行う葉緑体やミトコンドリアで RNA 編集を制御するために必要なしくみと考えられます。今後、RNA 編集を制御する詳しいしくみの解明や、医療や産業に応用できる制御可能な遺伝情報書き換えツールなどへの展開が期待されます。

本成果は 2021 年 6 月 22 日 0 時 (日本時間) に、国際学術誌「Nature catalysis」にオンライン掲載されました。

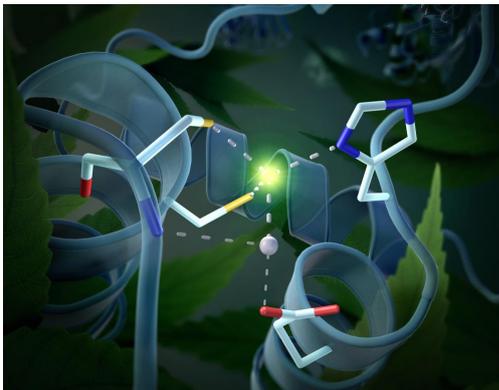


図 DYW ドメインの活性中心の触媒活性制御
(画：Martin Künsting / HZB)

1. 背景

植物細胞内のエネルギー工場である葉緑体とミトコンドリアは、いずれも起源である細菌由来のゲノム DNA をもっています。ところが陸上植物では、その DNA に含まれている遺伝情報に多数の間違い (変異) が含まれています。植物は、その間違いを正確に修復するために DNA ではなく、その情報がコピーされた RNA を書き換える「RNA 編集」というユニークな機構を用いています。私たちはこれまで多数の RNA 編集因子を同定してきました。これらはいずれも標的 RNA に配列特異的に結合する PPR ドメインと、C (シチジン) を脱アミノ化し、U (ウリジン) に変換する酵素活性をもつ DYW ドメインから構成されています (図 1)。これまで DYW ドメインの立体構造解析に成功した例はなく、核にコードされる RNA 編集因子が、オルガネラ内の標的を正確に書き換え、訂正するしくみはわかっていませんでした。

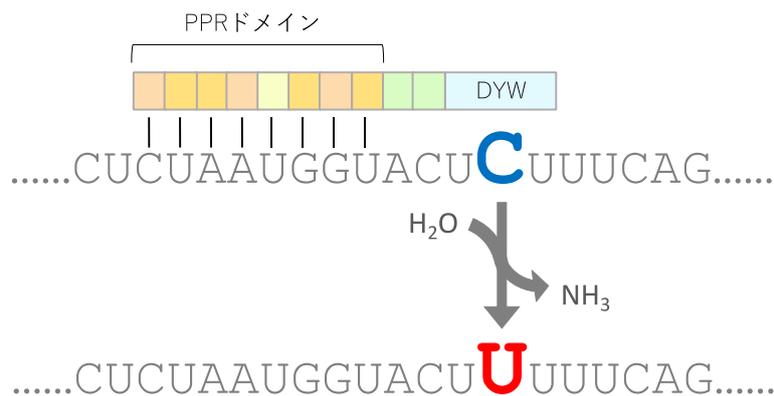


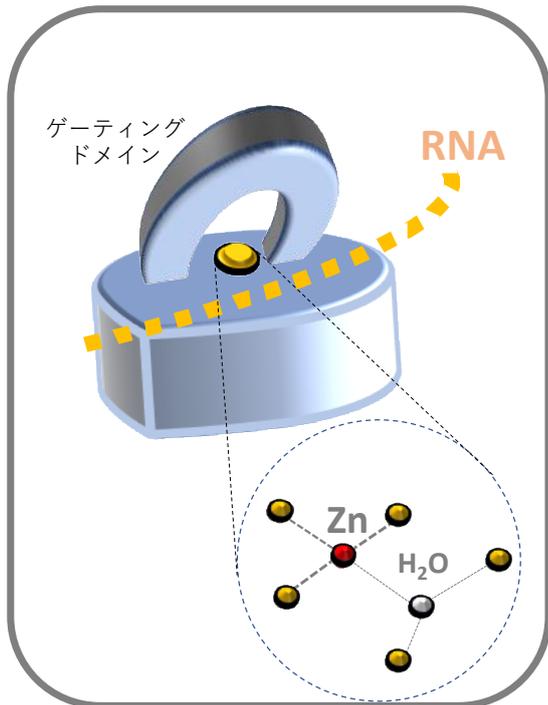
図 1 植物オルガネラの C-to-U RNA 編集

2. 研究手法・成果

まず、私たちは 30 以上の植物オルガネラ RNA 編集タンパク質をスクリーニングし、その中から大腸菌内で大量発現可能な、シロイヌナズナ葉緑体の OTP86 の DYW ドメインを解析対象として選びました。これをドイツ Helmholtz センターの BESSY II MX-Beamlines (注³) を用いて解析し、解像度 2.5 Å 分解能で立体構造を決定しました。DYW ドメインは、全体的にシチジン脱アミノ化酵素 (CTP 単体からアミノ基を除去し、UTP に変換する酵素) とよく似た構造をもっていました。しかし、DYW ドメインは他のシチジン脱アミノ化酵素にはない独特の「ゲーティング (門) ドメイン」をもっていました (図 2)。このドメインは活性中心を覆い、標的である RNA との結合を自己阻害していました。大腸菌内 RNA 編集再現系を用いた変異体解析の結果は、活性中心とゲーティングドメインの両方が RNA 編集反応に重要であることを示唆しました。

次に私たちは、ATP などの核酸が DYW ドメインの構造を変化させ、RNA 編集活性を上げることを突き止めました。核酸類似体である THU (テトラヒドロウリジン) の存在下で得られた DYW ドメインの結晶は、ゲーティングドメインの立体構造が非活性型と著しく異なっていました。活性型 DYW ドメインでは、ゲーティングドメインが大きく転移し、活性中心付近に標的シチジンが収まる空間ができていました (図 2)。さらに興味深いことに、活性中心のアミノ酸残基-亜鉛イオン-水分子の距離が接近することで、標的シチジンの脱アミノ化を触媒しやすい構造に変わっていました。この結果は DYW ドメインが、オルガネラ内で生成される ATP などの核酸の濃度によって制御をうけている可能性を示唆しています。このしくみは、核にコードされた RNA 編集酵素を、葉緑体やミトコンドリアで活性化するために必要なものかもしれません。

不活性型DYWドメイン



活性型DYWドメイン

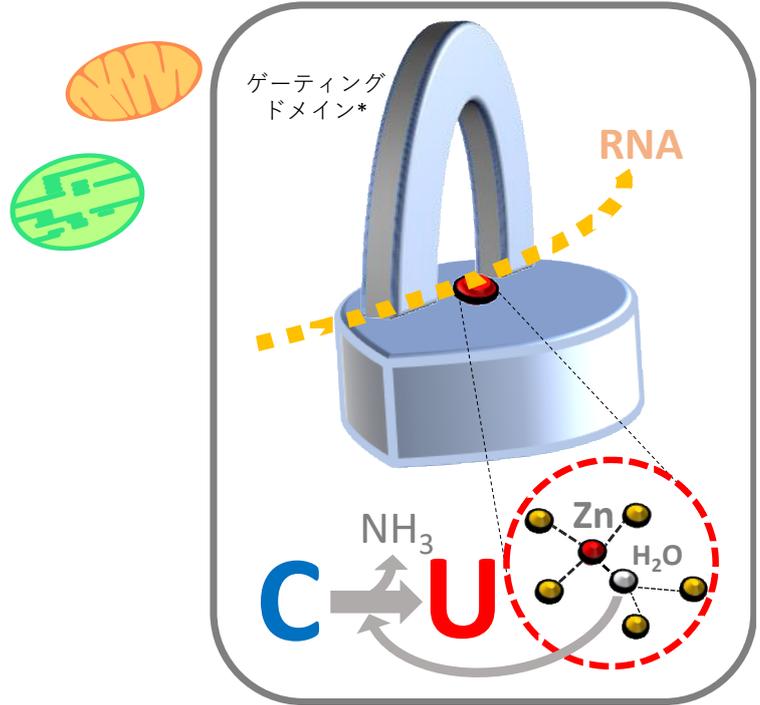


図2 ゲーティングドメインの転位によるDYWドメインの活性制御

3. 波及効果、今後の予定

今回、C-to-U RNA 編集の酵素活性をもつ DYW ドメインの立体構造をあきらかにし、その活性がゲーティングドメインの構造変化によって制御されていることを示しました。活性中心の金属付近の構造変化により触媒活性を制御する例は、今回はじめて見つかったユニークなものです。他の金属酵素でも同様な制御機構が見つかるかもしれません。今後は、PPR ドメインを含む RNA 編集因子全体と標的 RNA の複合体の構造を明らかにし、RNA 編集反応のより詳しいしくみを明らかにする予定です。RNA 編集はゲノム編集技術のように DNA 配列を変化させる必要がないため、より即効性および柔軟性が高い遺伝子操作手法になりえます。今後、DYW ドメインを利用することで、医療や産業に応用可能な、より正確かつ自在に制御可能な RNA 編集ツールの開発が期待できます。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は日本学術振興会科学研究費助成事業（課題：18H0246、研究代表者 竹中 瑞樹）、ドイツ学術振興会 DFG grant（課題：TA624/10-1、研究代表者：竹中 瑞樹）、（課題：SCHA 1952/2-2、研究代表者：Mareike Schallenberg-Rüdinger）、Greifswald 大学 start-up grant（代表者：Gert Weber）の支援を受けました。

<用語解説>

1：DYW ドメインとは

植物オルガネラの RNA 編集において、シチジン (C) をウリジン (U) に変換するシチジン脱アミノ化酵素活性を担う。RNA 結合能をもつ PPR ドメインの C 末端側に存在する場合と、PPR ドメインを持つ別のタンパク質と複合体を形成する場合がある。その名称は、保存された最後の 3 アミノ酸残基、D (アスパラギン酸) Y (チロシン) W (トリプトファン) に由来する。

2：ゲーティング (門) ドメインとは

DYW ドメインの内部に存在する細長くねじれたループ上のサブドメインで、門のように閉じて活性中心と標的 RNA との結合を妨げていることから名付けられた。その構造が変わることで DYW ドメインの触媒反応が制御される。DYW ドメイン以外のシチジン脱アミノ化酵素には存在しない。

3：BESSY II MX-Beamlines とは

BESSYII (Berlin [Electron Storage Ring Society for Synchrotron Radiation](#)) はドイツ、ベルリンの Helmholtz センターに存在する、日本の SPring-8 のような大型放射光施設。MX-Beamlines は高分子 X 線結晶学 (MX: Macromolecular Crystallography) のための様々な放射光ビームライン装置のこと。

<研究者のコメント：竹中 瑞樹 京都大学大学院理学研究科 准教授>

このプロジェクトは 10 年前、RNA 編集の発見者の一人である故 Axel Brennicke 教授と Berlin 大学の Gert Weber と共に開始したものです。多くの研究者の尽力のおかげで、このマイルストーンとなる論文が形になり感慨深いです。本研究は長年謎であった植物オルガネラの RNA 編集酵素の姿をはじめて明らかにするものです。また RNA 編集の制御という新たな一面を示唆するもので、今後の研究の発展が期待されます。

<論文タイトルと著者>

タイトル：DYW domain structures imply an unusual regulation principle in plant organellar RNA editing catalysis

(DYW ドメインの構造が示唆する植物オルガネラ RNA 編集反応の珍しい制御原理)

著者：Mizuki Takenaka, Sashi Takenaka, Tatjana Barthel, Brody Frink, Sascha Haag, Daniil Verbitskiy, Bastian Oldenkott, Mareike Schallenberg-Rüdinger, Christian Feiler, Manfred S Weiss, Gottfried J Palm and Gert Weber

掲載誌：Nature Catalysis DOI: <https://doi.org/10.1038/s41929-021-00633-x>

< 参考図表 >

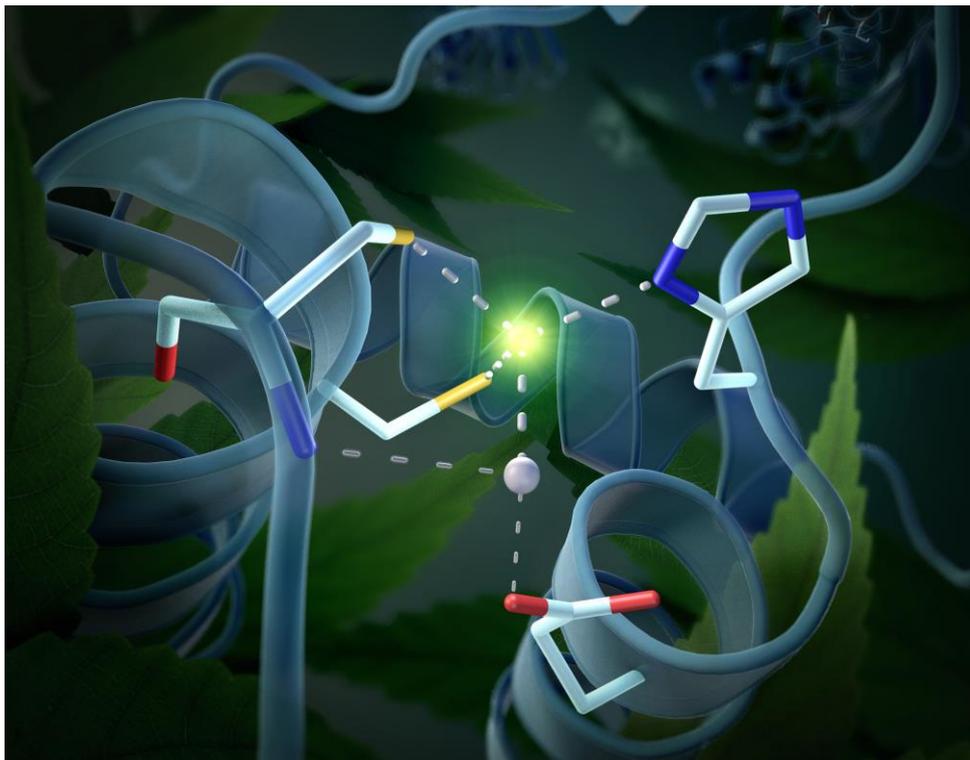


図 本研究の概要図 (画：Martin Künsting / HZB)