

- 1147-1156.
- 2) Rosen, E.M., Sarraf, P., Troy, A.E., Bradwin, G., Moore, K., Milstone, D.S., Spiegelman, B.M., & Mortensen, R.M. (1999) *Mol. Cell*, 4, 611-617.
  - 3) Lehmann, J.M., Moor, L.B., Smith-Oliver, T.A., Wilkinson, W. O., Wilson, T.M., & Kliewer, S.A. (1995) *J. Biol. Chem.*, 270, 12953-12956.
  - 4) Kubota, N., Terauchi, Y., Miki, H., Tamemoto, H., Yamauchi, T., et al. (1999) *Mol. Cell*, 4, 597-609.
  - 5) Cock, T.-A., Houten, S.M., & Auwerx, J. (2004) *EMBO Rep.*, 5, 142-147.
  - 6) Ristow, M., Muller-Wieland, D., Pfeiffer, A., Krone, W., & Kahn, C.R. (1998) *N. Engl. J. Med.*, 339, 953-959.
  - 7) Barroso, I., Gurnell, M., Crowley, V.E.F., Agostini, M., Schwabe, J.W., Soos, M.A., Maslen, G.L., Williams, T.D.M., Lewis, H., Schafer, A.J., Chatterjee, V.K.K., & O'Rahilly, S. (1999) *Nature*, 402, 880-883.
  - 8) Sarraf, P., Mueller, E., Smith, W.M., Wright, H. M., Kum, J. B., Aaltonen, L.A., Chappelle, A., Spiegelman, B.M., & Eng, C. (1999) *Mol. Cell*, 3, 799-804.
  - 9) Tontonoz, P., Nagy, L., Alvarez, J.G.A., Thomazy, V.A., & Evans, R.M. (1998) *Cell*, 93, 241-252.
  - 10) Huang, J.T., Welch, J.S., Ricote, M., Binder, C.J., Willson, T. M., Kelly, C., Witztum, J.L., Funk, C.D., Conrad, D., & Glass, C.K. (1999) *Nature*, 400, 378-382.
  - 11) Funk, C.D. (2001) *Science*, 294, 1871-1875.
  - 12) Shiraki, T., Kamiya, N., Shiki, S., Kodama, T.S., & Jingami, H. (2005) *J. Biol. Chem.*, 280, 14145-14153.
  - 13) Shiraki, T., Kodama, T. S., Shiki, S., Nakagawa, T., & Jingami, H. (2006) *Biochem. J.*, 393, 749-755.
  - 14) Shiraki, T. (2006) in *Functional and Structural Biology on the Lipo-network 2006* (Morikawa, K. & Tate, S. eds.), pp. 37-48, Transworld Research Network, Kerala, India.
  - 15) Pascual, G., Fong, A.L., Ogawa, S., Gamliel, A., Li, A.C., Perissi, V., Rose, D.W., Willson, T.M., Rosenfeld, M.G., & Glass, C.K. (2005) *Nature*, 437, 759-763.
  - 16) Kelly, D., Campbell, J.I., King, T.P., Grant, G., Jansson, E.A., Coutts, A.G.P., Pettersson, S., & Conway, S. (2004) *Nat. Immunol.*, 5, 104-112.

白木 琢磨

(大阪大学蛋白質研究所)

生体分子認識 (タカラバイオ) 寄附研究部門)

Activation mechanism of PPAR $\gamma$  by its endogenous ligands  
Takuma Shiraki (Division of Biomolecular Recognition, Institute for Protein Research, Osaka University, 6-2-3 Furuedai, Suita, Osaka 565-0874, Japan)

## セレノプロテイン生合成系について

### 1. はじめに

セレノシステイン (以下, Sec と表記) は, システインのチオール基がセレノール基 (-SeH) に置き換わったアミノ酸である. セレン (Se) は少なくとも哺乳類では微量必須元素の一つであり, 欠乏によるいくつかの疾病が知られている<sup>1)</sup>. Sec を含むタンパク質, いわゆるセレノプロテインは生物界に広く見出され, 当初この生合成経路 (以下, Sec 系と呼ぶ) は普遍的に存在するものと予想されたが, 現在では Sec 系を持たない生物も見つかっている. このように生物によって Sec 系の有無があるという事実は我々に次のような疑問を投げかける. 遺伝暗号の進化の中でこの系はいつごろ誕生して, どのように保存されてきたのか, 言い換えると現存する生物で何が Sec 系の有無を決めているのであろう. 本稿では我々の研究結果も交えてセレノプロテイン生合成系に関する最近の研究状況について述べる.

### 2. セレノプロテインの生合成経路 (Sec 系)

Sec はしばしば glutathione peroxidase や thioredoxin reductase 等の酸化還元酵素の活性部位に見出される. これらセレノプロテインは, 活性酸素種の除去や細胞内の酸化還元反応と関係しており, 酸化的ストレスを介するアポトーシスやがん化等との関連が調べられている<sup>1)</sup>.

Sec のタンパク質への取り込みは, Sec の tRNA (tRNA<sup>Sec</sup>) とそれに対応する mRNA 上のコドンとによってリボソーム上で行われる. 真正細菌でのセレノプロテインの生合成経路の解明には Böck らの貢献が大きい (図 1)<sup>2)</sup>. 大腸菌では, 四つの遺伝子, *selA*, *selB*, *selC*, *selD* が合成系に必要であり, 最初に *selC* 遺伝子から転写される tRNA<sup>Sec</sup> は直接 Sec を受容せずにセリン (Ser) を受容する. このセリル化は通常の Ser tRNA をアミノアシル化する酵素である seryl-tRNA synthetase (SerRS) によって行われ, その後 Ser 残基の骨格を用いて tRNA 上で Sec 基への変換反応が起こる. まず pyridoxal phosphate-dependent protein である SelA (*selA* product, selenocysteine synthase) が Ser 残基の -OH 基を脱離させてアミノアクリル基へと導く. 次に SelD (*selD* product, selenophosphate synthase) が作る selenophos-

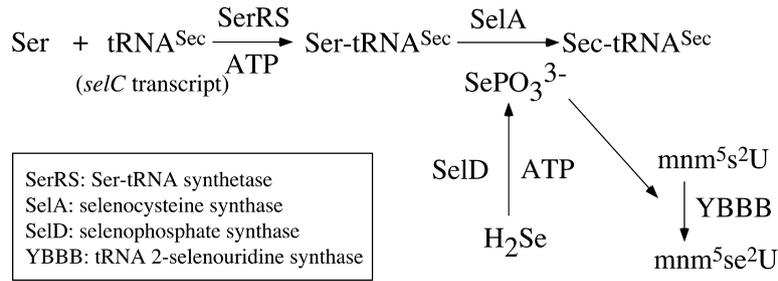


図1 真正細菌における Sec-tRNA<sup>Sec</sup> の合成経路  
 真正細菌における Sec-tRNA<sup>Sec</sup> の合成経路を示す<sup>2)</sup>。なお、この図では Lys, Glu, Gln tRNA のアンチコドンの1字目に見出された 2-selenouridine 誘導体の合成に SelD が関わっていることも示してある<sup>3)</sup>。

phate がセレン供与体となり、Sec 残基へと導かれる<sup>2)</sup>。なお SelD は、真正細菌の tRNA のアンチコドンに存在する 5-methylaminomethyl-2-selenouridine (mnm<sup>5</sup>Se<sup>2</sup>U) の合成の際にも必要とされているが、selD 遺伝子が無い枯草菌では、2-selenouridine 誘導体は見つかっていない<sup>3,4)</sup>。

以上のように Sec の tRNA への受容は他のアミノ酸と大きく異なるわけであるが、このように合成された Sec-tRNA<sup>Sec</sup> は、次に翻訳系へと運ばれる。この時 EF-Tu に代わって tRNA<sup>Sec</sup> 特異的伸長因子である SelB (selB product) が Sec-tRNA<sup>Sec</sup> と複合体を作りリボソームへ導く<sup>5)</sup>。tRNA<sup>Sec</sup> は SelA や SelB などに認識されることが必要であるため通常の tRNA にはない特徴的な構造を持つ (図2と3章)<sup>2)</sup>。また、Sec のコドンには UGA が用いられ、tRNA<sup>Sec</sup> の UCA アンチコドンと対合する。しかし、多くの翻訳系では UGA は終止コドンであるため、Sec の UGA コドンは終止コドンと区別されねばならない。そこで Sec の UGA コドンは SECIS (selenocysteine insertion sequence) と呼ばれる stem/loop 構造を伴う。真正細菌では、Sec を指定する UGA コドンのすぐ3'側オープンリーディングフレーム (ORF) 中に約 40 ヌクレオチドから成る SECIS が存在する。SELB・GTP 複合体については Sec-tRNA と結合することで SECIS への親和性が増し、その結果、SelB・GTP・Sec-tRNA・mRNA (SECIS) 複合体が形成されてリボソームへの取り込みが促進される<sup>5)</sup>。一方、古細菌や真核生物ではバクテリアの場合と異なり、SECIS は翻訳されるセレノプロテインに対する ORF ではなく、3'-UTR にある<sup>6)</sup>。また、この際の SECIS の認識は真正細菌とは異なり SelB に加えて SBP2 (SECIS-binding protein 2) やリボソームタンパク質である L30 が関与すると言われている<sup>6)</sup>。

古細菌や真核生物では、tRNA<sup>Sec</sup> のセリンの受容→セリン残基の活性化→セレンの取り込みという大筋は真正細菌

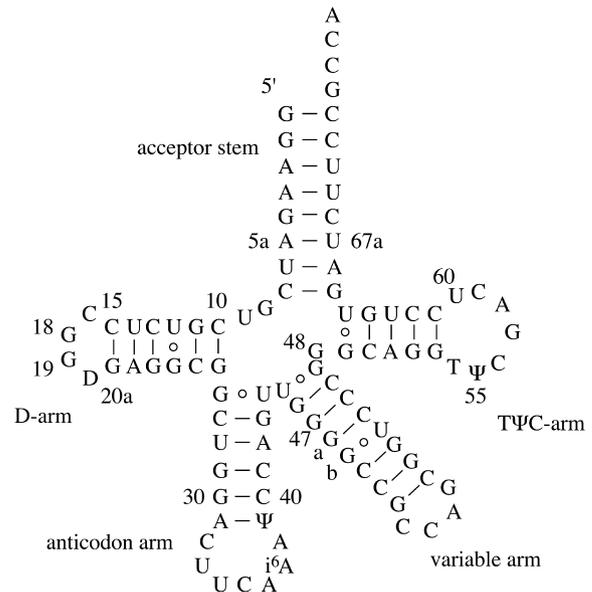


図2 大腸菌 selenocysteine tRNA の構造  
 D: dihydrouridine, i<sup>6</sup>A: N<sup>6</sup>-(Δ<sup>2</sup>-isopentenyl)adenosine, T: 5-methyluridine, Ψ: pseudouridine<sup>2)</sup>。塩基対間の○は wobble pair を示す。

と共通していると予測されていたが、真核生物や古細菌では SelA に相当するものは見つかっていなかった。しかし phosphoseryl-tRNA<sup>Sec</sup> kinase (PSTK) の同定によって Ser-tRNA<sup>Sec</sup> の活性化はほぼ解明された<sup>7)</sup>。さらに phosphoseryl 基を Sec へ変換する SecS (SecS product) も同定され、今まで不明だった真核生物、古細菌の系の解明が大きく進んだ (図3a)<sup>8,9)</sup>。

### 3. selenocysteine tRNA (tRNA<sup>Sec</sup>)

この章では真正細菌の tRNA<sup>Sec</sup> を中心にその構造的特徴や SerRS との関連を述べる。tRNA<sup>Sec</sup> は前述の SelB や

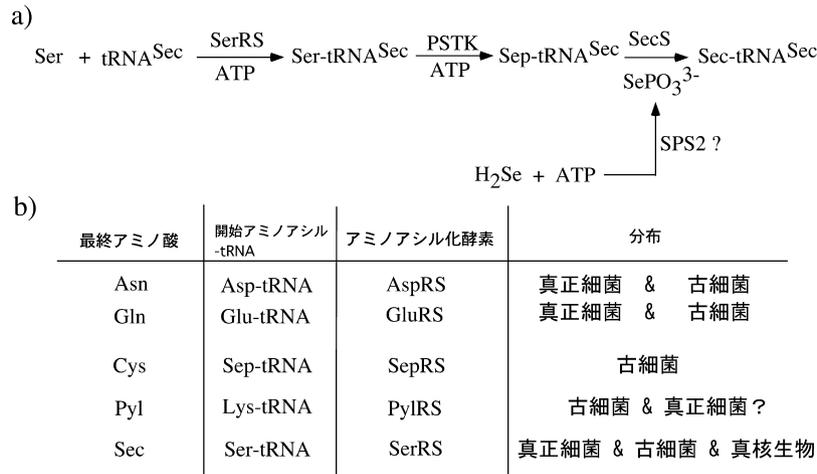


図3 真核生物, 古細菌の Sec-tRNA<sup>Sec</sup>の合成経路と間接型アミノアシル化の分布  
 (a) 真核生物, 古細菌の Sec-tRNA<sup>Sec</sup>の合成経路<sup>7,8)</sup>. Sep: O-phosphoserine, PSTK: O-phosphoserine-tRNA kinase, SecS: selenocysteine synthase (SepSecS<sup>8)</sup>), SPS2: selenophosphate synthase 2<sup>9)</sup>. (b) 間接型アミノアシル化の例とその分布を示す<sup>21)</sup>.

SelA に認識される必要性から, 標準アミノ酸を運ぶ他の tRNA とは違った構造を持つ (図2). まず, acceptor stem が通常の tRNA では7塩基対であるのに対して tRNA<sup>Sec</sup> では8塩基対と1塩基対だけ長い. この1塩基対分は SelA や SelB との相互作用に重要である<sup>10)</sup>. D-arm は, 通常 stem が3もしくは4塩基対であるのに対し tRNA<sup>Sec</sup> では6塩基対と長い loop 部分は逆に小さい. さらに特筆すべきは長い variable arm で, 大腸菌ではこの部分だけで実に20ヌクレオチドを超える. このように tRNA<sup>Sec</sup> は特異的な構造を持つ一方で通常の tRNA<sup>Ser</sup> に働く SerRS にも認識されねばならない. これは, SerRS 側から考えると Sec 系を持つ生物では Ser と Sec の2種類の tRNA を認識する必要があるが, Sec 系がない生物では tRNA<sup>Ser</sup> のみで良いことを意味する. この例として枯草菌の SerRS がある. 枯草菌の SerRS は大腸菌の tRNA<sup>Ser</sup> をセリル化できるが, 枯草菌自体は tRNA<sup>Sec</sup> を持たないことから大腸菌の tRNA<sup>Sec</sup> を全くセリル化できない<sup>4)</sup>. この例からも Sec 系の有無が SerRS の tRNA を認識する部分に違いをもたらしていることが予想される. SerRS は真正細菌から真核生物に至るまでかなり保存された全体構造を持ち, その中でも N 末端からの約120アミノ酸残基から成る coiled coil helix が tRNA を認識している. SerRS による tRNA<sup>Sec</sup> の認識には tRNA<sup>Ser</sup> と共通な identity set が働いているとされ, 真正細菌では acceptor stem の共通配列や variable arm などがその認識部位となる. *Thermus thermophilus* の tRNA・SerRS 複合

体の X 線結晶解析によれば, 主たる認識部位である variable arm と SerRS の N 末端の相互作用は sugar-phosphate backbone による非特異的な相互作用が主と考えられる<sup>11)</sup>. その場合 tRNA 構造における variable arm の配向が SerRS との結合に重要であるが, chemical probing の結果から Ser と Sec tRNA の両者では variable arm の配向は異なるという結果が得られている<sup>12)</sup>. では, 何故一つの SerRS によって tRNA<sup>Ser</sup> と tRNA<sup>Sec</sup> が同じように認識されるのであろうか? その理由として, tRNA<sup>Sec</sup> には通常の tRNA に比較して tertiary interaction が少なく, その結果, 構造が柔軟になり SerRS に認識されるという説がある<sup>12)</sup>. しかし, 通常の tRNA において三次構造の保持に重要と思われる Levitt pair (15-48塩基対) に相当するものが tRNA<sup>Sec</sup> では別の形で存在しているのかどうかなど, tRNA<sup>Sec</sup> の全体構造にはまだ不明な点もあることから Sec tRNA の認識についてはもっと詳細な分析が必要であろうと筆者は考えている. 実際に Sec 系の有無で SerRS の配列を比較すると, わずかに SerRS の tRNA 認識部位にアミノ酸配列の違いが見られる.

古細菌や真核生物の tRNA<sup>Sec</sup> については, 真正細菌の tRNA<sup>Sec</sup> と比較すると塩基配列や個々の arm 部分に差異が見られるが全体構造としては類似している. これは真正細菌, 古細菌, 真核生物の共通先祖には, この系が既に存在したことを示唆している<sup>13)</sup>.

#### 4. UGA コドンと Sec

枯草菌では、UGA 終止コドンがかなりの頻度でトリプトファン (Trp) として読まれているという報告があった<sup>14)</sup>。そのような理由から枯草菌における Sec 系の有無が注目されていたが、前述のように枯草菌には Sec 系は存在しない<sup>4)</sup>。枯草菌に近縁と考えられる *Mycoplasma* 属では、UGA は Trp のコドンであることが知られている<sup>15)</sup>。また、*Mycoplasma* も枯草菌同様 *selC* 遺伝子が見出されていないことから、*Mycoplasma* にも Sec 系は存在しないと考えられる。*Mycoplasma* において UGA コドンが Trp に変化した理由は、Osawa らが codon capture hypothesis で説明を試みている<sup>16)</sup>。この仮説ではゲノムへの AT 圧が重要であるが、ゲノムの GC 含量を比較すると枯草菌は大腸菌と *Mycoplasma* の中間に位置する。このことから筆者は Sec 系の有無と GC 含量の関連について興味を持ったが、今までに筆者が得た結果からは相関はほとんどないように見える。

#### 5. おわりに

*Aquifex aeolicus* は最も深い分岐点に位置付けられる超好熱真正細菌であり、Sec 系を有することが確認されている<sup>17)</sup>。また、古細菌、真核生物に Sec 系が見つかることなどから、やはりこれらの三つのドメインの共通祖先には既に Sec 系が存在したと考える方が妥当だと思われる。最近、古細菌で tRNA<sup>Cys</sup> がホスホセリン (Sep) を直接受容して Sep 残基が Cys へ変換される例が報告された<sup>18)</sup>。Ser, Cys, Sec のアミノ酸は酸素、硫黄、セレンの同族元素が違うのみであり、進化の過程でこれらの tRNA には普通のアミノアシル化とは異なる Ser を経由する間接経路が存在した可能性がある (図 3b)<sup>18)</sup>。このように Sec で代表される間接型のアミノアシル化が、それまでに出来上がっていたコドン-アミノ酸の枠を更に拡張しようとした結果できたものとする、その起源はより新しいものと思われる。事実、Sec は Cys よりも高い還元性を示すことから、共通祖先において Cys よりも Sec の利用が生物にメリットを与えるような状況が Sec 系を生み出したのかもしれない<sup>19)</sup>。また、終止コドンがアミノ酸をコードしているもう一つの例としてメタン生成古細菌の pyrrolysine がある<sup>20)</sup>。この例では用いるコドンは UAG であるが、これも Sec と同様その起源に興味を持たれており、最近では Sec 系との関連についても報告がある<sup>22)</sup>。

以上のように、我々はまだ Sec 系の起源を断言できるだ

けの十分な証拠を持っていない。特に、何が Sec 系の有無を決定しているのかについてはほとんどわかっていない。しかし、今後様々な生物のゲノム情報が蓄積し、かつそれらの生物的特徴と関連付けが進めば、臆げながらもその全体像が浮かび上がってくるのではないかと期待している。

最後に、紙面の都合上一部の論文しか引用できなかったことをお詫び致します。

- Birringer, M., Pilawa, S., & Flohé, L. (2002) *Nat. Prod. Rep.*, 19, 693-718.
- Böck, A. & Rother, M. (2006) in *Selenium: Its Molecular Biology and Role in Human Health*. 2nd Edition (Hatfield, D.L., Berry, M.J., & Gladyshev, N. eds.), pp. 9-28, Springer Science + Business Media, LLC, New York.
- Wolfe, M.D., Ahmed, F., Lacourciere, G.M., Lauhon, C.T., Stadtman, T.C., & Larson, T.J. (2004) *J. Biol. Chem.*, 279, 1801-1809.
- Matsugi, J. & Murao, K. (2004) *Biochim. Biophys. Acta*, 1676, 23-32.
- Baron, C., Heider, J., & Böck, A. (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90, 4181-4185.
- Allmang, C. & Krol, A. (2006) *Biochimie*, 88, 1561-1571.
- Carlson, B.A., Xu, X.-M., Kryukov, G.V., Rao, M., Berry, M. J., Gladyshev, V.N., & Hatfield, D.L. (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 101, 12848-12853.
- Yuan, J., Palioura, S., Salazar, J.C., Su, D., O'Donoghue, P., Hohn, M.J., Cardoso, A.M., Whitman, W.B., & Söll, D. (2006) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103, 18923-18927.
- Xu, X.-M., Carlson, B.A., Mix, Zhang, Y., Saira, K., Glass, R. S., Berry, M.J., Gladyshev, V.N., & Hatfield, D.L. (2007) *PLoS Biol.*, 5, e4.
- Baron, C. & Böck, A. (1991) *J. Biol. Chem.*, 30, 20375-20379.
- Biou, V., Yaremchuk, A., Tukalo, M., & Cusack, S. (1994) *Science*, 263, 1404-1410.
- Baron, C., Westhof, E., Böck, A., & Giegé, R. (1993) *J. Mol. Biol.*, 231, 274-292.
- Sturchler, C., Westhof, E., Carbon, P., & Krol, A. (1993) *Nucl. Acid Res.*, 21, 1073-1079.
- Lovett, P.S., Ambulos, N.P., Jr., Mulbry, W., Noguchi, N., & Rojers, E.J. (1991) *J. Bacteriol.*, 173, 1810-1812.
- Yamao, F., Muto, A., Kawachi, Y., Iwami, M., Iwagami, S., Azumi, Y., & Osawa, S. (1985) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 82, 2306-2309.
- Osawa, S. & Jukes, T.H. (1989) *J. Mol. Evol.*, 28, 271-278.
- Deckert, G., Warren, P.V., Gaasterland, T., Young, W.G., Lenox, A.L., Graham, D.E., Overbeek, R., Snead, M.A., et al. (1998) *Nature*, 392, 353-358.
- Sauerwald, A., Zhu, W., Major, T.A., Roy, H., Palioura, S., Jahn, D., Whitman, W.B., Yates 3rd, J.R., Ibba, M., & Söll, D. (2005) *Science*, 307, 1969-1972.
- Osawa, S., Jukes, T.H., Watanabe, K., & Muto, A. (1992) *Microbiol. Rev.*, 56, 229-264.

- 20) Hao, B., Gong, W., Ferguson, T.K., James, C.M., Krzycki, J. A., & Chan, M.K. (2002) *Science*, 296, 1462-1466.
- 21) Ibba, M. & Söll, D. (2004) *Genes & Dev.*, 18, 731-738.
- 22) Zhang, Y. & Gladyshev, N. (2007) *Nucl. Acid Res.*, 35, 4952-4963.

松儀 実広

(自治医科大学医学部生化学講座構造生化学部門)

The system of selenoprotein biosynthesis  
 Jitsuhiro Matsugi (Department of Biochemistry, Division of Structural Biochemistry, School of Medicine, Jichi Medical University, 3311-1 Yakushiji, Shimotsuke-shi, Tochigi 329-0498, Japan)

リン脂質合成における CTP:ホスホコリンシチジルトランスフェラーゼ α の転写制御

1. PC 合成経路

ホスファチジルコリン (PC) は真核生物の細胞膜を構成する最も含量の多いリン脂質であり, 合成には二つの経

路が知られている. 一つは CDP-コリン経路であり, もう一つはホスファチジルエタノールアミン (PE) からの PE のメチル化経路である (図 1). PE のメチル化経路では CDP-エタノールアミン経路により生合成された PE のエタノールアミンがメチル化されることで PC が合成される. PE のメチル化経路による PC 合成は哺乳動物では肝臓に認められるが, 主要な組織や細胞での主な PC 合成の経路は CDP-コリン経路である<sup>1)</sup>.

CDP-コリン経路による PC 合成は 3 段階の反応により行われる. コリンは必須栄養素であり, コリン特異的輸送体により細胞内に取り込まれ, 第 1 段階の反応においてコリンキナーゼによりリン酸化されホスホコリンが生成される. 第 2 段階の反応は CTP:ホスホコリンシチジルトランスフェラーゼ (CTP:phosphocholine cytidylyltransferase) (CT) によるホスホコリンの CTP 由来 CMP への転移反応であり, これにより CDP-コリンが生成される. 第 3 段階の反応により CDP-コリンはコリンホスホトランスフェラーゼによりジアシルグリセロールに転移され PC が生合成される (図 1). 細胞内のホスホコリン, CDP-コリン, PC 量を比較すると CDP-コリン量が最も少ないことなどから, CDP-コリン経路の律速段階は CDP-コリン合成反応であり, 律速酵素は CT と考えられている.

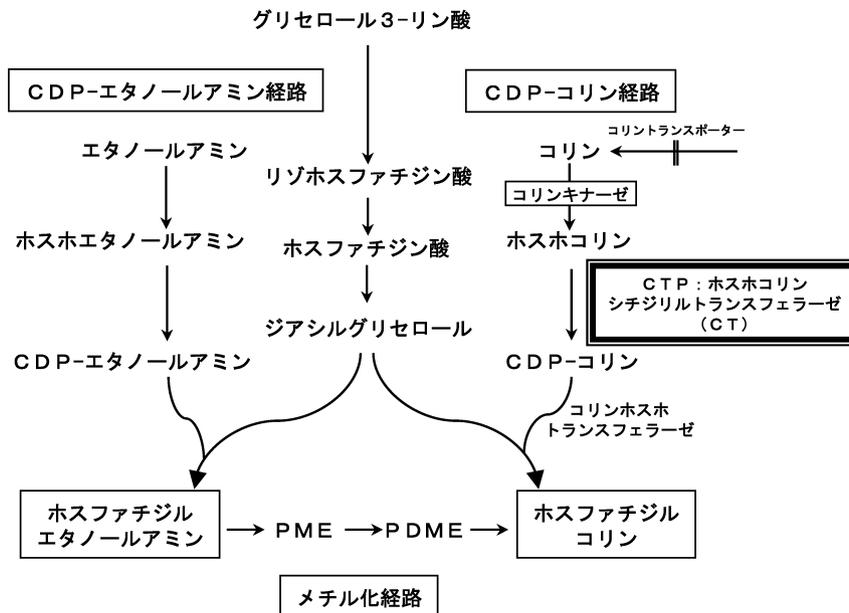


図1 ホスファチジルコリンおよびホスファチジルエタノールアミンの合成経路  
 PME, ホスファチジメチルエタノールアミン; PDME, ホスファチジジメチルエタノールアミン.