

## スレオニル tRNA 合成酵素のアミノ酸選択機構に関する理論的研究

(1 分子研, 2 総研大) ○森義治<sup>1</sup>, 奥村久士<sup>1,2</sup>

## Theoretical study on the selection mechanism of the correct amino acid in threonyl-tRNA synthetase

(1IMS, 2SOKENDAI) ○Yoshiharu Mori<sup>1</sup> and Hisashi Okumura<sup>1,2</sup>

## 【序】

本研究では、リボソームにおけるタンパク質の翻訳前に起こる、tRNA にアミノ酸を付与する酵素の構造と関連する反応過程を理論的方法により調べた。この反応を触媒する酵素はアミノアシル tRNA 合成酵素とよばれている。本研究で扱うのはスレオニン (Thr) に対する酵素である。

本研究では大腸菌由来のスレオニル tRNA 合成酵素 (ThrRS) の研究を行った (三次元構造については図 1 参照)。この酵素の主な機能は tRNA に対するスレオニン付加反応を触媒することである。この反応の際にはスレオニンを選択的に酵素内に取り込む必要がある。スレオニンに類似したアミノ酸であるセリンやバリンは本質的に取り込まれる可能性があるが、このようなアミノ酸が酵素に取り込まれにくい分子機構を解明することを目的とする。

## 【方法】

本研究では以上のようなアミノ酸がスレオニル tRNA 合成酵素に取り込まれる過程で選択的にスレオニンを取り込む分子機構を理論的に解析した。大腸菌由来のスレオニル tRNA 合成酵素の X 線結晶構造を用いて計算を行った (図 2 参照)。図に示されているようにこの分子は二量体をとっている。この構造は分子の本来の N 末端が除かれているものであるが、アミノ酸の取り込みやその後の酵素反応も野生型と同程度の効率で起こることが示されている。二量体の一方においては、アミノ酸結合部位にスレオニンが結合していないが (ThrRS1 とよぶ)、一方にはスレオニンが結合している (ThrRS2)。重

要なこととしてスレオニン結合部位には亜鉛が存在し、いくつかのアミノ酸側鎖が配位して



図 1 スレオニル tRNA 合成酵素の三次元構造

タンパク質と tRNA から構成されている。

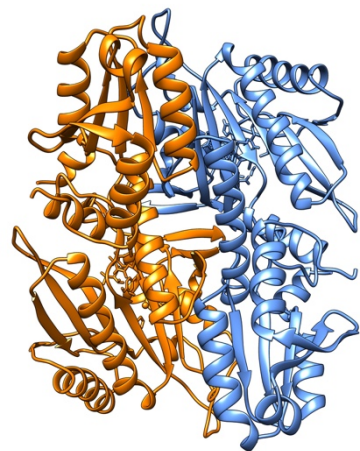


図 2 スレオニル tRNA 合成酵素の二量体

おり、またスレオニンも亜鉛に配位する。この結合部位に関して分子動力学シミュレーションを安定的に行うことができるかどうかを検証するため、まずいくつかの計算条件（亜鉛の複数の力場パラメータ）でシミュレーションを実行した。またこの計算で得られた構造が妥当であるかを確かめるために QM/MM 計算により亜鉛を含む系の安定構造を計算し、力場による記述が妥当であることを確かめた。そしてスレオニンが取り込まれる過程における結合自由エネルギーを計算するためにアンブレラサンプリングの手法を用いた分子動力学シミュレーションを行った。スレオニン非結合型の結合部位（ThrRS1）と結合型の結合部位（ThrRS2）での結合自由エネルギー評価を行い、比較を行った。また ThrRS1 と ThrRS2 に対するそれぞれの結合部位における分子構造の比較も行った。

### 【結果】

スレオニン結合部位における亜鉛への配位構造については、ひとつの力場についてシミュレーションを安定的に行うことができることが分かった。この条件を用いた計算結果より、結合自由エネルギーや結合部位における分子構造の解析を行った。スレオニンの結合自由エネルギーを計算した結果は図 3 のようになった。結合部位にスレオニンが結合していた構造（ThrRS2）においては、スレオニンの結合自由エネルギーは結合時に低くなり、また外部と遷移状態との自由エネルギー差も小さいことが分かった。ThrRS1 では外部にある状態と結合状態で自由エネルギー差はほとんどない。ThrRS1 と ThrRS2 とでこのような差が生じる理由を理解するために、スレオニンと結合部位近傍のアミノ酸との距離分布を計算した。図 4 はスレオニンと近傍のアスパラギン酸（Asp383）の距離の分布を示している。この図より、ThrRS1 は Asp383 から遠く、ThrRS2 は近い位置を占めていることが分かる。スレオニンとアスパラギン酸との静電相互作用が安定化に寄与していると思われる。

以上に加えてスレオニンと他の類似したアミノ酸（セリン・バリンなど）を区別している機構を理解するために、他のアミノ酸を結合した状態での分子動力学シミュレーションを実行し、結合部位における分子構造の解析を行った。この結果より、スレオニンの選択において結合部位近傍の非極性アミノ酸残基が重要な寄与をしていることが分かった。

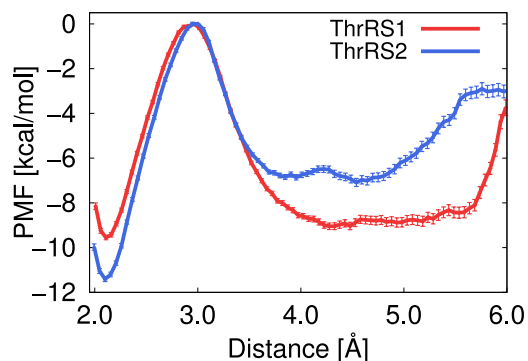


図 3 スレオニンの結合部位に対する自由エネルギープロフィール

スレオニンの N 原子と亜鉛間距離を反応座標にとっている。

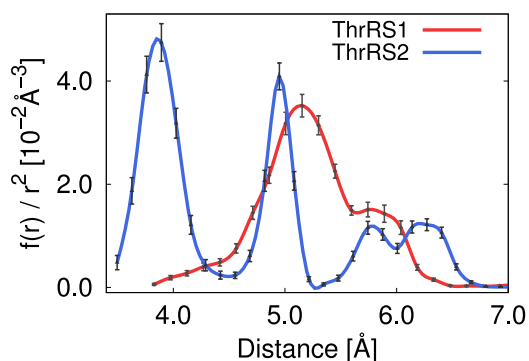


図 4 スレオニンと Asp383 との間の距離の分布

ThrRS1 と ThrRS2 のそれぞれにおけるスレオニンの重心と Asp383 側鎖の重心との距離に基づいて計算している。