

スレオニルtRNA合成酵素において高度に保存されたアミノ酸とその機能の物理化学的考察

¹北里大・薬, ²分子研, ³総研大
○森義治¹, 竹田一志鷹真由子¹, 奥村久士^{2,3}

Physical-chemical properties of highly conserved amino acids and their functions in threonyl-tRNA synthetase

○Yoshiharu Mori¹, Mayuko Takeda-Shitaka¹, Hisashi Okumura^{2,3}
¹ School of Pharmacy, Kitasato University, Japan
² Institute for Molecular Science, Japan
³ Department of Chemistry, Nagoya University, Japan

【Abstract】 We studied the properties of conserved amino acids in threonyl-tRNA synthetase (ThrRS) using several theoretical methods. First, we modeled the catalytic site of ThrRS. ThrRS has a zinc ion in the catalytic site. The coordination structure of the catalytic site was modeled and confirmed by molecular dynamics (MD) simulations and quantum chemical calculations. We performed MD simulations with umbrella sampling to calculate the free energy profile of amino-acid binding to the catalytic site of ThrRS. We estimated that several amino acids were important for protein-ligand interactions. Using bioinformatics tools, we identified highly conserved amino acids in the protein, which were estimated in the MD simulations.

【序】

アミノアシル tRNA 合成酵素は tRNA にアミノ酸を付与する酵素である。リボソーム上でタンパク質合成反応が起こる際にはアミノアシル化された tRNA が必須であるためこの酵素は重要である。それぞれのアミノ酸に対して対応する酵素が存在し、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 Fig. 1 参照)。この酵素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。

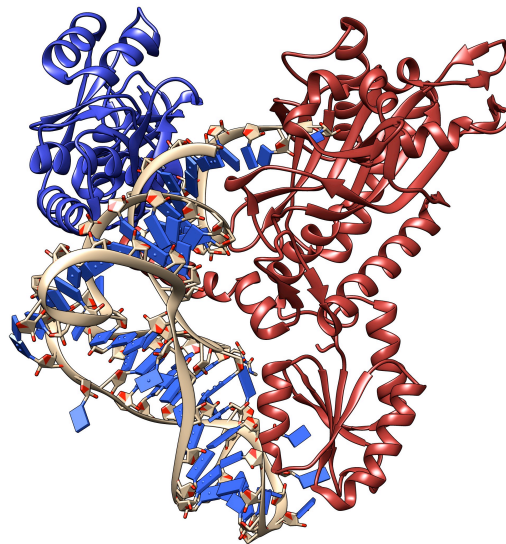


Fig. 1. Structure of threonyl-tRNA synthetase.

【方法】

本研究ではスレオニンがスレオニル tRNA 合成酵素に結合する過程で選択的にスレオニンを取り込む分子機構を、バイオインフォマティクスと分子科学の方法により解析した。まず分子動力学シミュレーションにより、スレオニン結合における反応座標を考え自由エネルギーを解析した。初期構造として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。スレオニル tRNA 合成酵素分子は二量体をとっている。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、一方にはスレオニンが結合している。スレオニン結合部位には亜鉛イオンが存在し、いくつかのアミノ酸側鎖がその亜鉛イオンに配位しており、またリガンドとしてのスレオニンも亜鉛イオンに配位する。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確かめるため、複数の亜鉛イオンの力場を検証し、使用する力場を決定した。またこの力場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。

分子動力学シミュレーションにより、いくつかのアミノ酸残基がスレオニンを安定化させていると推測された。そのようなアミノ酸残基が生物学的に重要であるかを理解するため、大腸菌やヒトを含む多くの生物種におけるスレオニル tRNA 合成酵素の配列に対してマルチプルアラインメント作成を実行した。この結果、重要だと推測されたアミノ酸は高度に保存されていることが分かった。

高度に保存されているアミノ酸がリガンドとの相互作用に関わっていることをより見るために、スレオニンの側鎖を変化させた複数の化合物を使用して、さらに分子動力学シミュレーションを行った。

【結果・考察】

まず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。結合部位にスレオニンが結合していた構造においては、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。スレオニンが結合していなかった構造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かった。ふたつの構造の間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。この結果スレオニンと近傍の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。

バイオインフォマティクスを利用した解析結果を理解するために、さらなる分子動力学シミュレーションを実行した。この結果の解析により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ことが可能となる。スレオニンの側鎖を変化させた複数の化合物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、スレオニン結合における化合物の選択においては、結合部位近傍の高度に保存された非極性アミノ酸残基が相互作用エネルギー的にも重要な寄与をしていることが分かった。