

tRNA 修飾酵素 Thil の tRNA の認識機構

北大・院・先端生命

田中良和, 山形しおり, 北郷悠, 山田洋子, チムナロンサリン, 姚閔, 田中勲

Thil は tRNA の 8 番目のウリジン塩基の 4 位カルボニル基をチオ基へと置換する反応を触媒する酵素である。既往の研究から, acceptor-stem と T-stem を含む 39 塩基からなる RNA (TPHE39A) が Thil により修飾され得る最小の RNA であることが明らかになっている。本研究では, TPHE39A の X 線結晶構造解析, Thil のドメイン蛋白質と RNA との相互作用解析および分光学的解析から, Thil による tRNA の認識機構についての知見を得た。

TPHE39A の立体構造は, RNA 中のリン原子の異常分散を利用した, SAD 法にて決定した。TPHE39A の構造と全長 tRNA の構造とを比較した結果, acceptor-stem 領域は構造が保存されていたのに対し, T-stem 領域の塩基対は完全に崩壊してループを形成していた(図 1)。一方, ゲルシフトアッセイからは, Thil-N 末端ドメイン(Thil-N) は tRNA, TPHE39A いずれにも結合できるのに対し, C 末端ドメイン(Thil-C)は結合できないことが明らかになった(図 2)。等温滴定型熱量測定からは, Thil-C はそれ自身では tRNA に結合できないが, tRNA との相互作用に影響を及ぼしていることが示された。また, 円偏光二色性により, Thil-C が tRNA の立体構造変化を誘起することが明らかになった(図 3)。以上の結果を考え合わせ, Thil-N が tRNA の acceptor-stem を認識して結合し, それに伴い 2 次的に結合した Thil-C が tRNA の修飾部位周辺の構造変化を引き起こすという Thil の tRNA 結合モデルが提案された。

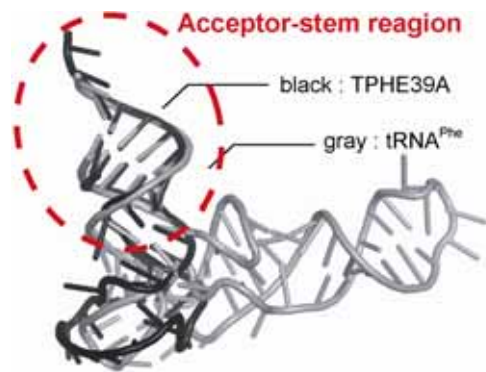


図 1. TPHE39A と tRNA の構造の比較

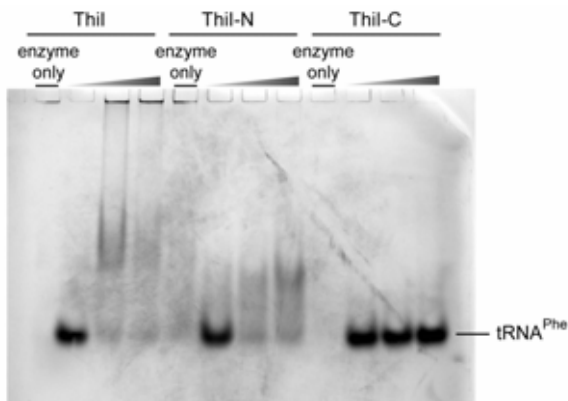


図 2. ゲルシフトアッセイの結果

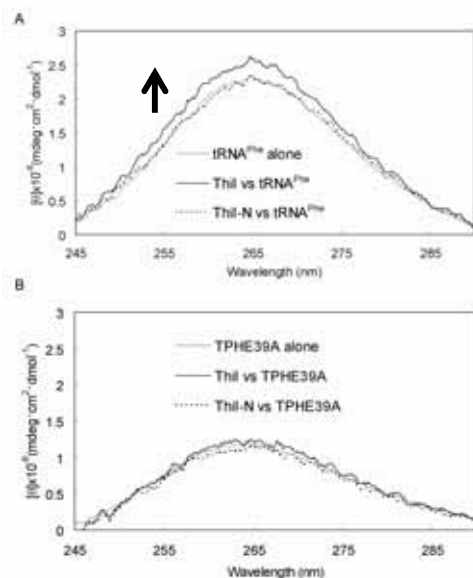


図 3. 円偏光二色性スペクトル

A. tRNA, B. TPHE39A