

## *Pyrococcus horikoshii* 由来アラニル tRNA 合成酵素の結晶構造

徳永 啓太<sup>1</sup>, 曾我部 正彰<sup>2</sup>, 尾瀬 農之<sup>3</sup>, 中村 彰良<sup>1</sup>, 濡木 理<sup>4</sup>, 姚 関<sup>1,3</sup>, 田中 勲<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>北大・院・生命,<sup>2</sup>カリフォルニア大・デービス校・院・医,<sup>3</sup>北大・院・先端生命,<sup>4</sup>東大・医科研

アミノアシル tRNA 合成酵素 (aaRS) の一種であるアラニル tRNA 合成酵素 (AlaRS) は、アラニンと、アラニンを指定したコドンに対応するアンチコドンをもつ tRNA (tRNA<sup>Ala</sup>) を結合させる酵素である。遺伝暗号が正しく翻訳されるためには、AlaRS が非常に高い精度で基質を認識する必要があるが、AlaRS のアミノアシル化部位はセリンやグリシンを、無視できない確率で誤って認識し、Ser・および Gly・tRNA<sup>Ala</sup> を合成しうる。しかし、AlaRS は校正サイトと呼ばれるもうひとつの活性部位でこれらの誤産物を速やかに加水分解することで、最終的なエラー率を非常に低いレベルに抑えている。

これまでに、aaRS の一種であるスレオニル tRNA 合成酵素 (ThrRS) においては、アミノ酸と結合する tRNA 3'末端を動かすことにより、アミノ酸の種類がチェックされ、誤ったアミノ酸が除かれる“供与モデル”が提唱されている。しかしながら、アミノアシル化、校正両ドメインにおいて ThrRS と相同性を示すアラニル tRNA 合成酵素 (AlaRS) に関しては、全体的な立体構造が解明されておらず、ドメイン間の相対配置や tRNA との結合の様子など、未解明な課題が多かった。

私たちは、超高度好熱古細菌 *Pyrococcus horikoshii* 由来の、C 末端のオリゴマー化ドメインを削除した AlaRS の X 線結晶構造解析を行った。AlaRS のリジン残基にメチル化修飾を施して良質な結晶を作製し、2.16Å 分解能の回折データを得て、構造決定に成功した (下図)。得られた構造では、AlaRS のアミノアシル化、校正両ドメインの活性中心が 35Å 離れていて、tRNA 3'末端のフリッピングにより両活性部位にアミノ酸が到達できるモデルを構築できないので、AlaRS においては、供与モデルが当てはまらない事を示唆している。過去の生化学データと総合すると、AlaRS はアミノアシル化と校正の際で異なる tRNA 結合様式を有していると考えられる。

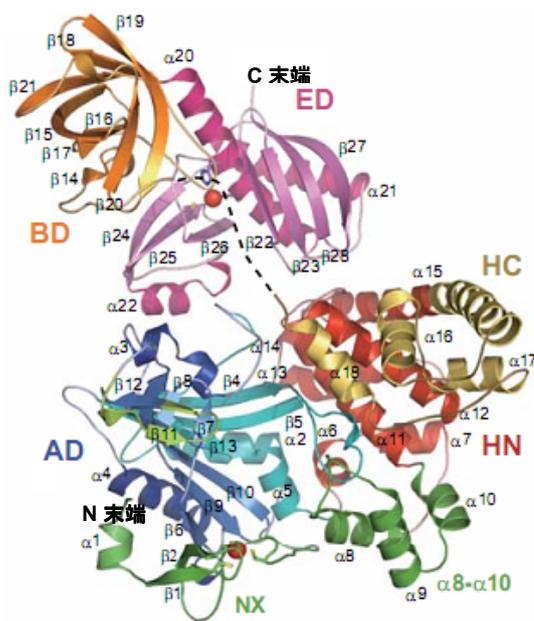


図 : *Pyrococcus horikoshii* 由来 AlaRS の構造

**NX** : N-terminal Archaea-specific domain

**AD** : activation domain

**HN** : helical domain N-terminal half

**HC** : helical domain C-terminal half

**BD** :  $\beta$ -barrel domain

**ED** : editing domain

※**NX** および **ED** 内の球体は、

$Zn^{2+}$ を表す。

※破線は、電子密度図が見えない部分を補ったものである。