

好熱性古細菌 *Aeropyrum pernix* K1 由来
トリプトファン-tRNA 合成酵素の結晶構造に基づく
基質認識機構

The substrates recognition mechanism based on the
crystal structure of tryptophanyl-tRNA synthetase
from thermophilic archaeon, *Aeropyrum pernix* K1

土屋 渉^{1,2}, 藤本 瑞¹, 山崎俊正¹, 長谷川典巳²
1 農業生物資源研究所, 2 山形大・理・物質生命化

アミノアシル-tRNA 合成酵素 (ARS) は、20 種類のアミノ酸にそれぞれ存在し、対応するアミノ酸の tRNA への転移反応を触媒する酵素であり、この ARS の厳密な基質特異性が、タンパク質の正確な翻訳反応を保証している。トリプトファン-tRNA 合成酵素 (TrpRS) は、真正細菌および真核生物の様々な種において、X 線結晶構造解析および速度論的解析による基質 tRNA の認識部位が既に同定されており、詳細な基質認識メカニズムが解明されている。一方で、古細菌由来 TrpRS についての研究は進んでおらず、その構造学的知見および tRNA アイデンティティは明らかにされてこなかったが、近年、我々が超好熱性古細菌 *Aeropyrum pernix* K1 由来 TrpRS (apTrpRS) の tRNA の認識部位を速度論的解析によって決定し、古細菌由来 TrpRS の基質認識メカニズムの一端を明らかにした。しかしながら、古細菌由来 TrpRS の構造情報については未だ十分に得られてはおらず、立体構造および基質認識メカニズムを構造学的知見から議論されるまでには至っていない。そのため、古細菌由来 TrpRS における tRNA および基質トリプトファンとの詳細な相互作用メカニズムを構造に基づいて明らかにすることを目的とし、apTrpRS の X 線結晶構造解析を行った。

シッティングドロップ蒸気拡散法によって結晶化を行ない、native TrpRS の結晶を得た。また、ソーキング法により基質トリプトファンとの複合体構造を得た。高エネルギー加速器研究機構 BL5A および BL17A において X 線回折データ測定を行ない、分子置換法によって apo-および Trp-apTrpRS 複合体をそれぞれ分解能 2.0Å および 2.2Å で構造を明らかにした。

今回、我々は apTrpRS の全体構造および基質結合部位の解析結果、モデリングによる基質 tRNA の分子認識メカニズムの考察について発表する。