

# tRNA 修飾酵素 TiaS による tRNA<sup>Ile2</sup> の特異的認識機構

## tRNA<sup>Ile2</sup> recognition mechanism by TiaS

沼田倫征、大澤拓生  
産総研・バイオメディカル

真正細菌および古細菌には、イソロイシンのコドン (AUU, AUC, AUA) に対応する 2 種類の tRNA (tRNA<sup>Ile1</sup> と tRNA<sup>Ile2</sup>) が存在している。この内、AUA コドンを解読する tRNA<sup>Ile2</sup> は、メチオニンコドン (AUG) を解読する tRNA<sup>Met</sup> と同じアンチコドン配列 (CAU) を有する。このため、未修飾の tRNA<sup>Ile2</sup> は、メチオニンコドンを誤って解読する。この誤翻訳を防止し、tRNA<sup>Ile2</sup> が AUA コドンと正しく塩基対合するよう、tRNA<sup>Ile2</sup> のアンチコドン 1 文字目のシトシン塩基 (C34) が転写後修飾される。真正細菌では C34 の 2 位がリジンで修飾されているのに対し、古細菌ではポリアミンのアグマチンで修飾された 2-アグマチニルシチジン (agm<sup>2</sup>C) として存在している。

agm<sup>2</sup>C は酵素 TiaS (tRNA<sup>Ile</sup>-agm<sup>2</sup>C synthetase) により ATP 依存的に合成される。遺伝暗号を正確に解読するためには、TiaS が tRNA<sup>Ile2</sup> と tRNA<sup>Met</sup> を厳密に識別し、tRNA<sup>Ile2</sup> のみをアグマチンで修飾しなければならない。古細菌の tRNA<sup>Ile2</sup> と tRNA<sup>Met</sup> はアンチコドン部分だけでなく、アンチコドンループ全体の配列が同一であり、両者は極めて類似している。そのため、TiaS が tRNA<sup>Ile2</sup> と tRNA<sup>Met</sup> を区別するしくみは理解されていない。本研究では、TiaS と tRNA<sup>Ile2</sup> との複合体の構造解析および tRNA<sup>Ile2</sup> の変異体解析から、TiaS が tRNA<sup>Ile2</sup> を特異的に選択するしくみの解明を試みた。

複合体の構造解析から、TiaS は tRNA<sup>Ile2</sup> のアクセプターステムおよびアンチコドンアームと相互作用していた。そこで、tRNA<sup>Ile2</sup> のこれらの領域を tRNA<sup>Met</sup> タイプに置換したところ、アクセプターステムを入れ替えた変異型 tRNA<sup>Ile2</sup> で、アグマチンによる修飾がほぼ消失することが明らかとなった。tRNA<sup>Ile2</sup> では、アクセプターステムに存在する G1-C72 および G2-C71 塩基対は高度に保存されている。一方、tRNA<sup>Met</sup> では、その相当領域が A1-U72 もしくは C2-G71 塩基対に置換している。そこで、tRNA<sup>Ile2</sup> の G1-C72 と G2-C71 塩基対をそれぞれ A1-U72 と C2-G71 に置換した結果、変異型 tRNA<sup>Ile2</sup> のアグマチン受容活性がほぼ消失することが明らかとなった。構造解析から、TiaS は Arg369 の側鎖および Ser361 の主鎖を利用して tRNA<sup>Ile2</sup> の G1-C72 と G2-C71 塩基対を特異的に認識することが明らかであり、構造解析と tRNA 変異体解析の結果はよく一致していた。以上の結果から、TiaS が G1-C72 および G2-C71 塩基対を配列特異的に認識することによって tRNA 特異性を決定していることが明らかとなった。