

## 分子シミュレーションで解明する

## ホモ二量体チロシル tRNA 合成酵素 (TyrRS) のハーフサイト活性

岡本 慶乃 (筑波大学 生物学類)

指導教員: 原田 隆平 (筑波大学 計算科学研究センター)

## 【導入】

細胞内でタンパク質が合成される翻訳過程では、mRNA の塩基配列に対応したアミノ酸がリボソームに運搬される必要がある。この運搬は、アミノアシル tRNA (aa-tRNA) により達成される。aa-tRNA は、mRNA のコドンに対応したアミノ酸が付加された tRNA であり、コドンごとに 40 種類以上が存在することが知られている。aa-tRNA は、アミノアシル tRNA 合成酵素 (aaRS) と呼ばれる酵素により合成される。tRNA にはアミノ酸を識別する能力がないため、アミノ酸ごとに異なる種類の aaRS が存在することで、アミノ酸と tRNA の特異性は担保されている。そのため、aaRS は翻訳の正確な遂行に必要な不可欠な酵素である。aaRS の一種であるチロシル tRNA 合成酵素 (TyrRS) は、チロシンを tRNA に結合させ、Tyr-tRNA を合成する酵素である。TyrRS は、細菌などにおける薬剤の標的タンパク質でもあることから、aaRS の中でも特に研究されている酵素である。そのため、これまでに複数の立体構造が解析されてきた。構造解析の結果、TyrRS は細胞内においてアミノ酸配列が同一のタンパク質が 2 つセットになった「ホモ二量体」として存在することが明らかになった。[1] 一方で、生化学的実験から TyrRS はホモ二量体あたり 1 mol の基質としか反応しないことが示された。[2] これらの結果から、TyrRS は二量体で存在するものの、片方のサブユニットのみで反応すると考察されてきた。この非対称的な特徴は、「ハーフサイト活性」と呼ばれ、TyrRS 二量体の両サブユニットのアミノ酸配列は同じであるにも関わらず、機能に違いがあることを示唆している (図 1)。[2-3] しかしながら、サブユニットごとの活性の差異がどのように生じるかというメカニズムは未だ不明である。そこで本研究では、分子動力学シミュレーション (MD) を用いて TyrRS におけるハーフサイト活性のメカニズムを解明することを目的とし、研究を行った。

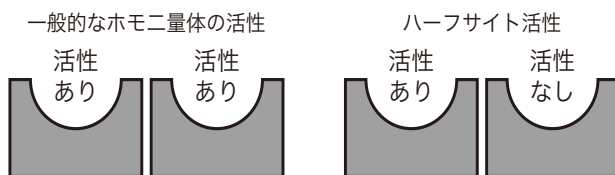


図 1. ハーフサイト活性の模式図

## 【方法】

タンパク質は生体内で絶えず揺らいでおり、そのダイナミクスは生体機能に直結している。つまり、ダイナミクスを調べることは生体機能を知るために重要である。そこで本研究では、タンパク質ダイナミクスを追跡できる MD を使用した。MD では、原子間に働く力を計算して原子の位置と速度を更新することにより、タンパク質の構造変化が時系列データ (トラジェクトリ) として得られる。トラジェクトリを解析することで、タンパク質のダイナミクスや構造安定性などを評価できる。

## 【材料】

TyrRS 二量体におけるハーフサイト活性メカニズムを解明するため、MD を実行した。初期構造として、TyrRS 二量体の結晶構造 (PDB ID: 1X8X) から基質を除いたアポ体のホモ二量体を使用した。なお、サブユニット間の初期条件を統一するため、2 つのサブユニット構造が同一の構造を使用した。計算条件は、300K・1 atm で、1  $\mu$ s の MD を独立に 6 回実行した。

## 【結果と考察】

MD により得られたトラジェクトリを用いて、以下の解析を行った。初めに、TyrRS の主要な動きを抽出するため、主成分分析 (PCA) を実行した。PCA は、特徴量の次元削減を行う解析手法であり、タンパク質の特徴的な動きを抽出できる。PCA の結果、第一主成分として各サブユニットの構造を Open/Closed の二状態に分離でき、各サブユニットは Open/Closed、あるいは Closed/Closed のいずれかの状態で存在することが明らかになった。つまり、初期構造が完全に同一であるにも関わらず、TyrRS 二量体は非対称構造を安定構造にもつことが示唆された。次に、サブユニット間の構造非対称性を引き起こす原因を特定するため、各サブユニットの分子内コンタクトを Open/Closed 構造で比較した。解析結果として、Closed 構造で特異的な分子内コンタクトが観察され、構造非対称性は各サブユニットにおける分子内コンタクトの差異によって引き起こされることが示唆された。最後に、サブユニット間の構造非対称性が基質結合能に与える影響を評価した。具体的には、各サブユニットの基質結合ポケットの大きさを測定したところ、ポケットの大きさが異なる (大小) 2 状態に分離することが明らかになった。さらに、結合ポケットが大きい (小さい) とき、全体構造は Open (Closed) に対応していることが明らかになった。ここで、結合ポケットの大きさと基質結合能の関係について注目すると、結合ポケットが小さい場合、基質結合能は低いと考えられる。そのため、全体の構造変化と協同して、基質結合能もサブユニット間で非対称になることが示唆された。解析結果から導かれる結論として、TyrRS のハーフサイト活性は、分子内コンタクトの差異がサブユニット間の構造非対称性を引き起こし、基質結合ポケットの大きさが変化することで生じていると考えられる (図 2)。

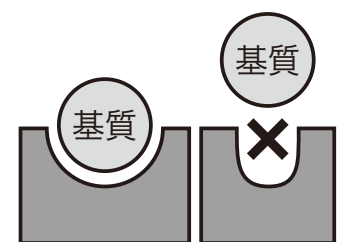


図 2. 本研究から推察されるハーフサイト活性のメカニズム

## 【参考文献】

1. T. N. Bhat et al., *J. Mol. Biol.*, **158**, 699-709 (1982)
2. A. R. Fersht et al., *Biochemistry*, **14**, 1-4 (1975)
3. G-R Raquet et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **133**, 19578-19581 (2011)