

超好熱性細菌 *Aquifex aeolicus* VF5 由来の D-Tyr-tRNA deacylase (DTD)

X 線結晶構造解析

The crystal structure of D-Tyr-tRNA deacylase (DTD) from *Aquifex aeolicus* VF5

石井 健¹、柴田 理恵¹、房富 絵美子¹、
白水 美香子^{1,2}、別所 義隆^{1,2}、横山 茂之^{1,2,3}

Takeshi Ishii¹, Rie Shibata¹, Emiko Fusatomi¹,
Mikako Shirouzu^{1,2}, Yoshitaka Bessho^{1,2}, Shigeyuki Yokoyama^{1,2,3}

(¹理研・ゲノム科学総合研究センター、²理研・播磨研究所、³東大・院理)

(¹RIKEN GSC, ²RIKEN Harima Inst., ³Grad. Sch. Sci. Univ. Tokyo)

e-mail: ishii@tks@gsc.riken.jp

D-Tyr-tRNA deacylase (DTD)は、D-アミノアシル tRNA のエステル結合を加水分解し、D-アミノ酸と tRNA に分解する酵素である。生体内で Tyrosyl- (Tyr-)、Aspartyl- (Asp-)、Tryptophanyl- (Trp-) tRNA 合成酵素は L-アミノ酸だけでなく、少量ながら D-アミノ酸も tRNA に結合させることが知られている。その結果、翻訳の過程で D-アミノ酸がペプチド中に取り込まれ、生体に有毒となる。DTD はこの D-アミノアシル tRNA を特異的に分解し、tRNA をリサイクルするとともに、翻訳におけるタンパク質合成の品質を制御している。

大腸菌の DTD は、D-Tyr-、D-Asp-、D-Trp-tRNA などの特異的に認識し加水分解するが、L-アミノアシル tRNA に対する活性は持たないことがわかっている。また一方で、tRNA に結合した D-アミノ酸の側鎖の種類に対する特異性を有している。一次配列の相同性 (50%) から、超好熱性細菌 *Aquifex aeolicus* VF5 株由来の DTD (aqDTD)も大腸菌 DTD と同様の活性を持つことが予測される。我々は、DTD の基質特異性と反応分子メカニズムを明らかにする目的で、aqDTD のタンパク質結晶構造解析を行った。

結晶系 $P6_522$ 、単位格子 $a = b = 91.5 \text{ \AA}$, $c = 164.5 \text{ \AA}$ の結晶が得られ、分解能 2.8 \AA で X 線結晶構造を決定した。aqDTD の結晶構造は非対称単位の対称性で関係付けられるホモダイマーであり、このダイマーで形成される β バレル様の構造を有していた。また、ダイマー間には、tRNA の 3' 末端を受容可能な大きさの顕著なポケットが存在していた。DTD オルソログのアミノ酸配列を比較すると、この領域に生物種間で保存されたアミノ酸残基が集中して存在していることから、基質結合部位はこのポケットであると推測できる。ポケット近傍の分子表面では、保存正電荷アミノ酸が tRNA のリン酸基と静電相互作用し、一方、ポケット内部の予想される活性中心では、保存グルタミン、スレオニンが D-アミノ酸のカルボキシル基とアミノ基の立体配置を認識すると予想される。このとき、基質アミノ酸が L 体の場合、側鎖とタンパク質分子との間に立体障害が起こることが、選択的な活性に寄与していると考えられる。また、この活性中心に隣接する小孔が、D-アミノ酸の側鎖種類を篩にかけていると推測される。