

## 沼田 倫征 研究者 論文紹介

### GidA (tRNA アンチコドンの 5-カルボキシメチルアミノメチルウリジン生合成に関わる酵素)の構造機能解析

#### “Conserved cysteine residues of *GidA* are essential for biogenesis of 5-carboxymethylaminomethyluridine at tRNA anticodon”

Takuo Osawa, Koichi Ito, Hideko Inanaga, Osamu Nureki, Kozo Tomita and Tomoyuki Numata

*Structure* 17, 713-724 (2009)

#### <研究の背景>

遺伝情報の翻訳過程において、tRNA は mRNA にコードされたヌクレオチド配列情報をアミノ酸配列情報に変換するアダプター分子として機能する。従って、tRNA による正しいコドンの認識は、適正な蛋白質を生合成する上で極めて重要である。tRNA によるコドンの認識は、コドン-アンチコドン間の塩基対の形成によりなされているが、その際、tRNA のアンチコドンに存在する修飾ヌクレオチドが、正しいコドンの認識に重要な役割を果たすことが知られている。特に、tRNA のアンチコドン一文字目に存在する修飾ヌクレオチドは、コドン第三塩基との対合に関わることから、コドンの縮重(揺らぎ)と密接に関わっている。

適正な蛋白質合成を行うためには、グルタミン酸、リジン、グルタミン等のアミノ酸に対応する tRNA が、プリンで終了するコドンのみを特異的に認識し、コドンの揺らぎを制限することが不可欠とされている。グルタミン酸、リジン、グルタミン等のアミノ酸に対応する tRNA では、アンチコドン一文字目のウリジンを 5-カルボキシメチルアミノメチル-2-チオウリジン (cmnm<sup>5</sup>s<sup>2</sup>U) 等に変換することで、この問題に対処しており、この制御システムは、全ての生物において高度に保存されている。

cmnm<sup>5</sup>s<sup>2</sup>U の 5 位のカルボキシメチルアミノメチル化修飾には、二種の酵素 (*GidA* と *MnmE*) が関与し、両酵素は複合体を形成することが知られており、さらに、葉酸化合物由来の炭素原子とグリシンがカルボキシメチルアミノメチル基の骨格を形成することが推定されている。しかしながら、その詳細な修飾反応メカニズムについては良く分かっていない。

#### <論文の内容>

本研究では、カルボキシメチルアミノメチル化修飾反応における *GidA* の役割を解明するために、その結晶構造を決定し、立体構造に基づいた変異体機能解析等から以下の新たな知見を得た。

1. *GidA* には補酵素であるフラビンアデニンジヌクレオチド (FAD) が強固に結合しており、FAD のフラビン環結合部位周辺が *GidA* の活性部位である。
2. FAD 結合部位近傍に存在する保存されたシステイン残基が、*in vivo* においてカルボキシメチルアミノメチル化修飾反応に関わる。
3. ゲルシフト解析から、*GidA*•*MnmE* 複合体中において、*MnmE* ではなく *GidA* が主に tRNA と

の結合に関わる。

4. **GidA** には活性部位を中心とした広範な塩基性領域が存在しており、この領域で基質 **tRNA** を特異的に認識する。
5. これらの結果から、反応過程において **tRNA** のアンチコドン一文字目のウリジンは、触媒に関わるシステイン残基の近傍に配置されることが示唆され、**GidA** がチミジル酸合成酵素と類似の機構でウリジンの 5 位を修飾すると考えられる。

### <今後の展開>

本研究では **GidA** の構造機能解析を行い、ウラシル塩基 5 位のカルボキシメチルアミノメチル化修飾反応メカニズムの一端を明らかにしたが、解決すべき問題は山積している。今後、酵素と **tRNA** との複合体の立体構造の解明や酵素反応中間体の解析などを通して、**GidA** と **MnmE** による修飾反応の分子的基盤を解明していく予定である。

ヒトのミトコンドリアにおけるウラシル塩基 5 位の修飾異常は様々な疾患とも関連していることから、**GidA** と **MnmE** によるカルボキシメチルアミノメチル化修飾反応メカニズムの解明が、将来、医薬や新しい疾患治療方法の開発にも応用されることが期待される。

### <用語解説>

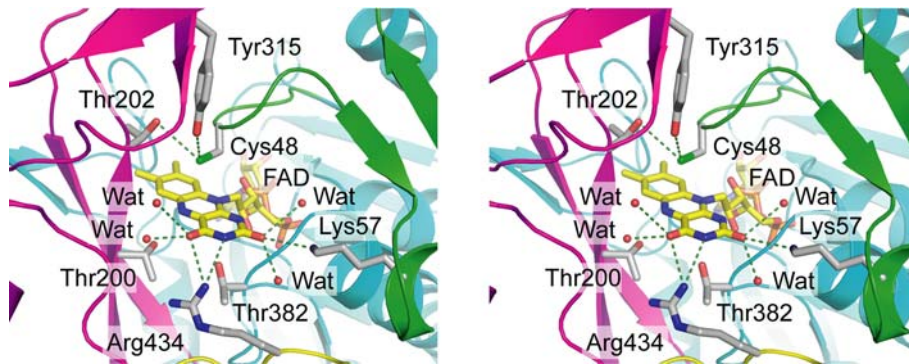
コドン： 蛋白質を構成するアミノ酸を指定するヌクレオチドの三つ組み。コドンの連続により遺伝情報が構成される。

アンチコドン： **tRNA** の 34 位から 36 位の連続した三つのヌクレオチド残基。リボソーム上で **mRNA** 中のコドンと塩基対を形成する。

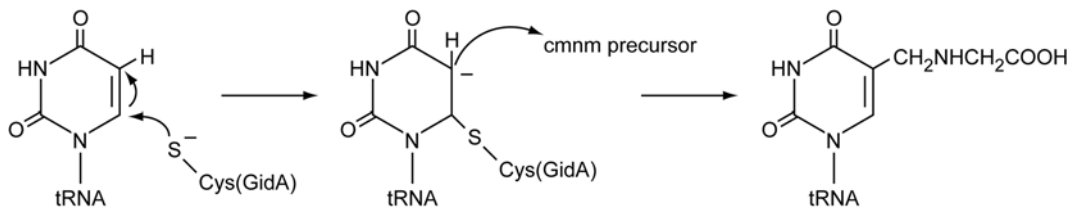
縮重： 蛋白質を構成するアミノ酸は 20 種類であるのに対して、コドンは 64 種類存在する。従って、複数のコドンが一つのアミノ酸に対応付けられることを意味する。この現象を遺伝暗号の縮重という。

揺らぎ： **tRNA** が同じアミノ酸を規定する複数のコドンを認識すること。

プリン： **RNA** を構成する四つのヌクレオシド(アデノシン、グアノシン、シチジン、ウリジン)の内、アデノシンとグアノシンを指す。



GidA の活性部位のステレオ図。フラビン環の上に位置するCys48がカルボキシメチルアミノメチル化修飾反応に関与する。



推定される反応モデル。GidA の触媒システインがウラシル塩基を求核攻撃する。次いで、活性化された 5 位の炭素原子がカルボキシメチルアミノメチル基前駆体を求核攻撃することが推定されるが、その解明にはさらなる実験的検証が必要である。