

Glu-tRNA^{Gln} アミドトランスフェラーゼ CAB の活性阻害評価法とその応用

生命分子化学講座 応用菌学

茶谷 美穂

【背景と目的】*Staphylococcus aureus* を含む多くの真正細菌は、non-discriminating glutamyl-tRNA synthetase (ndGluRS) により、グルタミンに対応する tRNA (tRNA^{Gln}) にグルタミン酸を結合し、Glu-tRNA^{Gln} を生成する。その後、これを Glu-tRNA^{Gln} アミドトランスフェラーゼ CAB (GatCAB) で Gln-tRNA^{Gln} に変換し、蛋白質合成に用いる。GatCAB はこれらの細菌にとって必須の酵素であり、その阻害物質は新規作用点をもつ抗生物質として期待される。本研究では ndGluRS と GatCAB を共発現させた大腸菌の生育の差を見ることで GatCAB 特異的な活性阻害を簡便に評価できる系を構築し、阻害物質の探索や分子機構の解明に応用することを目的とした。

【方法と結果】大腸菌で *S. aureus* Mu50 由来の ndGluRS を単独もしくは GatCAB と共に発現させ、その生育を測定した。ndGluRS を大腸菌で発現させると、細胞内に異常なアミノアシル tRNA である Glu-tRNA^{Gln} が蓄積するため蛋白質合成に異常が起き、生育が抑制された。しかし、GatCAB を共発現させると、これが Gln-tRNA^{Gln} に変換されることで生育抑制が緩和された。ndGluRS と GatCAB を共発現した大腸菌で GatCAB が阻害された場合生育が抑制されるため、この組換え大腸菌の生育を指標として GatCAB 活性阻害を評価できることが確かめられた。これを利用して、微生物由来の天然化合物や有機合成化合物から GatCAB 阻害物質の探索を行った。その結果、約 400 サンプルのうち 3 つの天然化合物が阻害物質候補となった。また、GatCAB の立体構造から予測された機構を基に作製された様々な GatCAB 点変異複合体と ndGluRS を大腸菌で共発現させ、その生育を測定した。いくつかの GatCAB 点変異複合体で、ndGluRS による宿主大腸菌の生育抑制を緩和できなかったことから、その変異導入部位のアミノ酸が構造上重要であると特定した。

【結論及び考察】本研究により、ndGluRS と GatCAB を共発現した大腸菌の生育を測定することで、簡便に GatCAB の活性阻害評価をすることが可能となった。またこの方法により、GatCAB 特異的阻害物質候補がいくつか得られ、GatCAB 活性を左右するキーマミノ酸もいくつか推定された。さらに詳細な確認実験が必要だが、多くの試料を一度に取り扱う方法として有効であると思われる。



図) *S. aureus* の Gln-tRNA^{Gln} 生合成経路