



## 生化与细胞所揭示tRNA 3' CCA末端在EcLeuRS分子内摆动对其催化和编校功能的影响

文章来源: 上海生命科学研究院

发布时间: 2013-04-19

【字号: 小 中 大】

4月12日, 国际学术期刊*Nucleic Acids Research*在线发表了中科院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所王恩多研究组题为*The Yin and Yang of tRNA: proper binding of acceptor end determines the catalytic balance of editing and aminoacylation*的研究论文, 报道了tRNA<sup>Leu</sup> CCA末端在亮氨酰-tRNA合成酶(LeuRS)的分子内的摆动平衡了酶的氨基酰化和编校活力。

LeuRS催化生成亮氨酰-tRNA<sup>Leu</sup>为蛋白质的生物合成提供原料, tRNA的氨基酰化反应在合成结构域通过氨基酸活化和tRNA的氨基酰化两步反应完成。但是, 其催化活性中心也会识别亮氨酸类似物生成误活化氨基酸, 进而产生误氨基酰-tRNA<sup>Leu</sup>。为保证正确地翻译遗传信息, LeuRS在进化的过程中招募了一个额外的编校结构域(CP1)来行使编校功能, 在该结构域水解生成的误氨基酰化产物。LeuRS的氨基酰化和编校功能依赖于tRNA的3' CCA末端在两个结构域之间的摆动。在氨基酰-tRNA合成活性中心没有活化的亮氨酸时, tRNA 3' CCA末端倾向于结合在编校结构域, 此时的tRNA呈经典的倒L构象。而当tRNA的3' CCA末端结合到氨基酰-tRNA合成结构域进行氨基酰化反应时, 则呈现压缩扭曲的构象(Palencia, et al. *NSMB*, 2012, 19: 677-84)。

谭敏博士、博士研究生王猛通过对大肠杆菌LeuRS (EcLeuRS) 的结构分析和酶学动力学研究, 鉴定了EcLeuRS中协助tRNA 3' CCA转位的关键残基R418, 将其突变成酸性的谷氨酸和天门冬氨酸导致与tRNA相互排斥使tRNA不能进入氨基酰化活性中心, 酶的氨基酰化活力几乎丧失。当EcLeuRS处于氨基酰化构象时编校结构域中的E292和氨基酰化结构域中的R416形成了空间距离为2.8Å的盐桥; 揭示了这个盐桥的作用在于将游离的tRNA锁定在氨基酰-tRNA合成活性中心, 当引入单突变R416E或E292R破坏盐桥使游离的tRNA 3' CCA末端从氨基酰-tRNA合成活性中心摆出, 降低了酶的氨基酰化活力; 酶的氨基酰化活力随着引入双突变E292R-R416E重构盐桥而恢复。

进一步的研究表明, tRNA 3' CCA末端在EcLeuRS分子内的摆动同时还调节了酶的编校活力, 当EcLeuRS的突变降低了tRNA 3' CCA在氨基酰-tRNA合成活性中心的结合时, CCA倾向位于编校结构域内, 具有这一构象的酶变种依赖tRNA的转移前编校功能将被激活, 进而提高了酶的依赖tRNA的转移前编校活力以及总的编校活力。该研究揭示了tRNA 3' CCA末端在EcLeuRS分子内的摆动对其催化和编校功能的影响, 同时为以tRNA在LeuRS中分子内的摆动机制为靶点的新型抗生素设计提供了理论依据。

该项工作得到了国家科技部、国家自然科学基金委、中国科学院和上海市科学技术委员会的资助。

[打印本页](#)[关闭本页](#)