

28I-am06

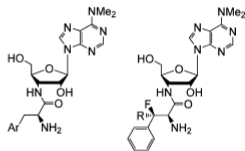
pK_a を制御したピュエロマイシン誘導体を用いるリボソームのペプチド結合形成反応機構の速度論的解析

David Kingery¹, 奥田 健介², 廣田 喬², Ingo Wohlgenuth³, Marina Rodnina³, Scott Strobel¹ (¹エール大分子生物物理・生化学科, ²岡山大学, ³ウィッテン/ヘルデッケ大物理生化学研)

【目的】リボソームはペプチド結合形成（以下 PT と略す）反応を司る細胞小器官である。リボソームが PT 反応に果たす役割が、真に酸塩基触媒なのかあるいは単なる基質のエントロピー・トラップに過ぎないのかは未だ不明のままである。この点を明らかにするために、PT 反応の遷移状態の解明を Bronsted 係数を利用した速度論的な解析を用いて行った。

【方法】tRNA に替えて低分子アナログを基質として利用する 70S リボソームのフラグメント・アッセイを用いた。A-site 基質として用いた各種ヌクレオシドを右図に示す。1 は市販品であり、2-5 は対応する Fmoc アミノ酸と puromycin aminonucleoside とを縮合後、脱保護により調製した。なお、4,5 は対応するアミノ酸をそれぞれ D-Ser より 10 工程、*p*-toluenesulfonamide より 6 工程にてジアステレオ選択的に合成した。

【結果および考察】それぞれの基質のアミノ基の pK_a を酸塩基滴定により求めたところ、7.0 より < 5.0 まで分布していた。フラグメント・アッセイの結果、3 以外はいずれも A-site 基質として働き、これらの pK_a と k_{cat} との相関より Bronsted 係数を計算したところ、-0.27 と求められた。この値は、触媒が関与しないエステルのアミノリシスから求められる値(0.8-0.9)とは大きく異なっており、本 PT 反応における律速段階において、塩基触媒の関与により求核剤のアミンからプロトンが引き抜かれていることを強く示唆する結果である。



1: Ar = *p*-MeO-Ph

2: Ar = Ph

3: Ar = pentafluoro-Ph

4: R = H

5: R = F