

综述与专论

氨酰-tRNA 合成酶专一性识别的进化*

林 军^{1, 2)} 黄京飞¹⁾**⁽¹⁾中国科学院昆明动物研究所, 中国科学院细胞与分子进化重点实验室, 昆明 650223; ⁽²⁾中国科学院研究生院, 北京 100039

摘要 氨酰-tRNA 合成酶 (AARS) 是一类在蛋白质合成过程中起着重要作用的酶, 它通过与 tRNA 及其相应氨基酸的专一性识别作用, 使得基因序列能够被精确地翻译成蛋白质序列. 然而, 氨酰-tRNA 合成酶的这种识别作用既有专一性, 也具有“兼容性”. 氨酰-tRNA 合成酶的这种双重性质不仅与其结构的进化有关, 而且还与其所处的各类生物的不同进化阶段有关. AARS 似乎经历了一个由“模糊专一性”(多重专一性)到“精确专一性”(单一专一性)的演变历程.

关键词 氨酰-tRNA 合成酶, 专一性识别, 序列与结构同源性, 功能演化

学科分类号 Q71

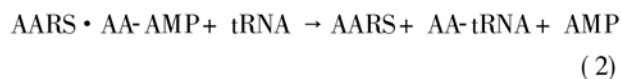
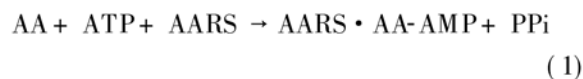
氨酰-tRNA 合成酶 (aminoacyl-tRNA synthetase, AARS) 是生命活动过程中一类非常重要而又古老的酶, 它在蛋白质合成过程中起着催化氨基酸的活化, 并与相应的 tRNA 相连接的重要作用, 因而有关 AARS 结构、功能与进化关系的问题一直为人们所关注. 迄今为止的研究表明, AARS 广泛分布于除病毒之外的所有生命体中. 目前, 已有大量的 AARS 序列和结构被测定, 收录在 SWISS-PROT/TrEMBL 蛋白质数据库 (<http://www.expasy.org/sprot/>) 中的序列数已超过 1 900 条, 在蛋白质结构数据库 PDB (<http://www.rcsb.org/pdb/>) 中也有 100 多个结构被收录. 通常, 在生物体内具有 20 种 AARS, 相应于 20 种氨基酸, 每一种 AARS 一般仅能特异地催化一种氨基酸. 因此 AARS 结构与其专一性催化作用的关系一直是研究的重点. 然而, 随着研究的深入, 人们发现一些 AARS 的专一性在真核和原核生物中是有差异的, 真核生物的 AARS 较原核生物 AARS 具有明显的高的专一性. 于是, 有关 AARS 进化与其专一性的关系也逐渐被人们所重视. 对 AARS 进化关系的研究, 无疑将有助于加深人们对生物体内蛋白质合成机制的演化、酶的催化特异性、以及蛋白质结构与功能关系等问题的认识.

1 氨酰-tRNA 合成酶的结构与其专一性识别

通常, AARS 至少具有两个结构域, 即结合 ATP 和识别 tRNA 的结构域. 根据与 ATP 相结合结构域 (催化结构域) 的核心结构, 可将 AARS

分成 I 和 II 两大类 (图 1). I 类 AARS 具有类似 Rossmann 折叠的核心结构域, 包括 ArgRS、CysRS、GluRS、GlnRS、IleRS、LeuRS、MetRS、TrpRS、TyrRS 和 ValRS; II 类具有被 α 螺旋所环绕的反平行的 β 折叠结构, 属于这一类的酶有 AlaRS、AsnRS、AspRS、GlyRS、HisRS、LysRS、PheRS、ProRS、SerRS 和 ThrRS (文中对于某种氨基酸特异的酶均用三字符号加 RS 来表示). AARS 的四级结构通常具有单体 (α)、同二聚体 (α_2)、同四聚体 (α_4) 和异四聚体 ($\alpha_2\beta_2$) 几种结构形式. 但 I 类酶多为单体, 而 II 类酶则多为二聚体或多聚体.

大多数氨酰-tRNA 合成酶是通过以下两步反应直接氨酰化以便激活氨基酸, 使之能与相应的 tRNA 结合, 具体反应过程为:



这里, AA 表示某种氨基酸, 而 AARS 表示与之相应的氨酰-tRNA 合成酶.

然而, I 类和 II 类 AARS 具有不同的氨酰化模式: I 类 AARS 使相应 tRNA 的 2' OH 氨酰化, 而大多数 II 类酶氨酰化 3' OH, 但 PheRS 除外.

* 国家自然科学基金资助项目 (30170507, 30024004) 和云南省自然科学基金资助项目 (1999C0084M).

** 通讯联系人.

Tel: 0871-5195183, E-mail: hjf58117@public.km.yn.cn

收稿日期: 2002-04-26, 接受日期: 2002-05-28

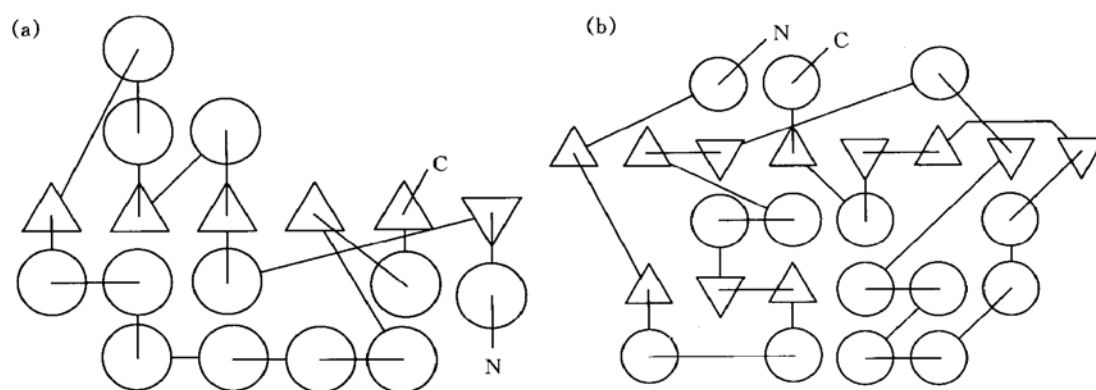


Fig. 1 Topology cartoons of catalytic domains in class I and II AARS

图 1 两类 AARS 催化结构域示意图

(a) 和 (b) 分别为 I 和 II 类酶催化结构域拓扑结构图。○: α 螺旋; Δ : β 折叠; N: N 端; C: C 端。

(自 Protein Topology Home Page <http://tops.ebi.ac.uk/tops/>, 略有改动。)

AARS 具有较严格的催化特异性, 真核生物中无一例外地存在 20 种 AARS, 它们各自识别特异的氨基酸, 因此真核生物具有较高翻译准确性。而在原核生物中, 则有一些例外, 比如 GlnRS 只存在于 γ -Proteobacteria 这个类群之中, 而在其他的原核生物中 GlnRS 的功能则由 GluRS 来替代, 这类 GluRS 被称为“无辨别力”的谷氨酰-tRNA 合成酶 (nondiscriminating glutamyl-tRNA synthetase, GluRS nd)。在原核生物中 GluRS 不能直接合成, 而是通过“误氨酰化”催化谷氨酸与 tRNA^{Gln} 连接生成 Glu-tRNA^{Gln}, 然后在 Glu-tRNA^{Gln} 酰氨转移酶的催化下, 以谷氨酰氨为供体, 最后生成 Glu-tRNA^{Gln}。GluRS 和 GluRS nd 的专一性识别是个值得深入研究的问题, 因为它们二者具有明显的结构和序列相似性, 但却具有不同的专一性。类似地, 在大多数古细菌和几种细菌中, AsnRS 的功能由 AspRS 替代^[1,2]。

AARS 通常只激活特定氨基酸与相应的 tRNA 连接, 而将其他结构相似的分子 (包括结构相似的氨基酸和 tRNA 分子) 排除在外的现象很独特, 这种核酸与蛋白质识别的结构基础与方式是人们长期关心的课题。tRNA 的结合分为激活和转移两个阶段。在激活过程中, 有些氨酰-tRNA 合成酶与氨基酸的结合是一步识别, 如果氨基酸与激活位点不匹配则不能结合, 如色氨酸的识别。但另一些却不同, 如目前研究得比较清楚的 IleRS。Ile 和 Val 只相差一个亚甲基, 它们不能在翻译过程中被有效地区分而防止错误, 但这种错误发生概率却是很低

的, 因为 IleRS 存在内部固有的“校正阅读”机制, 可将 Val 去除 (图 2); IleRS 能在氨基酰化反应中的两个关键点校正误氨酰化的缬氨酸, 分别为

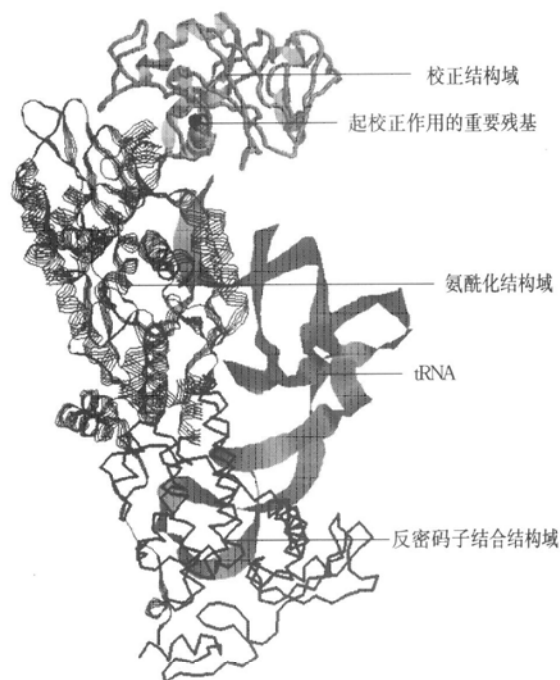


Fig. 2 IleRS and tRNA binding complex

图 2 IleRS 及其与 tRNA 结合的复合物

IleRS 具有两个校正部位, 它们可对底物进行“双重校正”的筛选作用。第一次校正将比亮氨酸大的氨基酸从激活位点排出, 但不能排出缬氨酸, 因而使得 Val-AMP 的复合物得以保留, 即 Val 被误氨酰化; 第二次校正使 Val-AMP 水解, 而 tRNA^{Ile} 可引发误氨酰化的 Val 从催化到校正位点的转移。

转移前和转移后校正, 两个反应都要依靠 tRNA^{Ile} 的存在^[3,4]. ValRS 也具有类似的“双重校正”机制^[5].

2 氨酰-tRNA 合成酶专一性识别功能的进化

蛋白质的功能既受其结构的约束, 也受其进化的约束. 研究蛋白质分子进化的目的之一就是要弄清其结构演化对功能变化的影响规律. 研究显示, 除病毒外的其他所有物种中均发现有编码 AARS 的基因存在. 因此, 人们推测这些酶的形成应是生命形成较早期的事件. 通过对 AARS 的结构域进化的分析, Wolf 等^[6]推测了 AARS 的进化是以基因水平转移事件为基础的复杂过程.

虽然 I 类和 II 类 AARS 的催化结构域仅有两种结构类型, 但其他的结构域则可有多种结构类型. 例如: 在人 TyrRS 中结合 tRNA 的结构域也存在于 PheRS 的 β 亚基、原核生物的 MetRS 和内皮单核细胞激活多肽 II 及酵母 GU4 核酸结合蛋白^[7]中; OB-折叠类型的核酸结合结构域家族成员都有一个结合核酸的 OB-折叠类型结构域^[8], 包括 LysRS、AspRS 和 AsnRS 的反密码子结合结构域, 也包括与 DNA 修复有关的 RecG 螺旋酶的一部分, 异三聚体复合物复制因子 A 的一个亚基, 还有细菌的 DNA 聚合酶 III α 链的 C 端部分; DHHA1 结构域为 DHH 亚家族 1 成员^[9], 但它也存在于 AlaRS 中; 细菌核糖体蛋白 L25 是一种与 5S rRNA 结合的蛋白质, 但它与应激蛋白和 GlnRS 均有同源性. AARS 中催化结构域之外的其他结构域主要功能是结合并识别 tRNA, 然而在其他蛋白质中, 这种相应的结构域功能也主要是与核酸的结合有关, 这些识别核酸的结构域结构差别很大, 因而它们识别核酸的机制也有很大的差别. AARS 识别 tRNA 的结构域存在着复杂的多样性, 提示这类酶对于 tRNA 的识别机制也是复杂多样的. 大多数 AARS 主要识别 tRNA 的反密码环, 但有的也识别 tRNA 的接受臂^[10]、可变环^[11]及 D 环^[12,13]. 同一大类的 AARS, 在识别 tRNA 的机制上可能有很大的差异, 虽然它们在与 ATP 的识别上是相同的. 因此, 弄清不同 AARS 对 tRNA 的识别机制, 对于探究蛋白质合成机制的起源与演化、与物种适应性进化的关系和蛋白质结构-功能关系的本质等将具有重要的启迪作用.

GlnRS 和 AsnRS 的功能在部分原核生物中可分别由 GluRS 和 AspRS 替代, 这暗示着它们之间可能

存在着某种进化联系. 有人认为, 在 γ -Proteobacteria 这类细菌中的 GlnRS 可能是由真核生物中的 GluRS 进化而来, 并由真核生物通过基因水平转移到 γ -Proteobacteria 之中^[14], 故而, 在原核生物中只有这类细菌有 GlnRS. 同样, AsnRS 也可能是由真核生物中的 AspRS 通过基因水平转移至某些细菌和古细菌中^[15]. 另外, LysRS 存在于结构完全不同的 I 类和 II 类酶中, 且 I 类 LysRS 和 II 类 LysRS 在功能上没有明显的差别, 而两类 LysRS 在结构和序列上则差异很大^[16]. 有人推测, 可能 I 类和 II 类 LysRS 共存于一个“共同祖先”的阶段, 在进化过程中 I 类 LysRS 只保留于古细菌的某些分支, 并通过基因水平由古细菌转移到某些细菌当中^[17], 因此 I 类 LysRS 只存在于某些原核生物中, 但 I 类和 II 类 LysRS 之间是否存在进化关系仍缺乏令人信服的可靠证据. 最近的研究发现, 某些古细菌中存在着由属于 II 类 AARS 的双功能酶-脯氨酰半胱氨酰-tRNA 合成酶 (prolyl-cysteinyI tRNA synthetase, ProCysRS) 代替属于 I 类 AARS 的 CysRS 功能的现象^[18], 它与在人类和果蝇基因组中发现的双功能酶谷氨酰脯氨酰-tRNA 合成酶 (glutamyI-prolyI tRNA synthetase, GluProRS) 不同, GluProRS 是 GluRS 和 ProRS 通过基因融合而成, 而 ProCysRS 的序列和结构与 ProRS 的非常一致. 对此, 一种观点认为, 现生古细菌中的 CysRS 可能由基因水平转移而来^[19], 另一种则认为 ProCysRS 仅在某些细胞质中具高浓度半胱氨酸的细胞中进化, ProCysRS 可能并非原始类型的酶^[20]. 然而, 这种由 II 类酶取代 I 类酶功能的结构基础及其进化机制, 至今仍不清楚. 按现有的知识来看, 在生命起源之初, 早期的生命体不大可能一开始就具备完善的蛋白质合成系统和所有的 20 种氨基酸或 AARS, 因此在原始生命体的蛋白质合成系统中, 一种 AARS 可能不仅对一种氨基酸有识别作用, ProCysRS 也许就是一个例子. 综上所述, 从现有的研究结果来看, 伴随着生物由简单到复杂的演化过程, AARS 似乎经历了一个由“模糊专一性”(多重专一性)到“精确专一性”(单一专一性)的演变历程.

3 展 望

大量研究表明, 具有类似序列、结构和功能的蛋白质或结构域, 在进化上是同源的. 因此, I 类 AARS 的催化结构域显然是同源的, II 类酶的结构

域也是如此, 而 I 类和 II 类酶的催化结构域之间看不出有任何的序列和结构同源性, 因而它们应该没有进化联系. 然而, AARS 中与 tRNA 结合的结构域以及其他一些附加的结构域, 则可能存在着较为复杂的进化关系, 一些 I 类酶中的这类结构域可能与 II 类酶中的相应结构域有进化联系, 而且这可能是与 AARS 和 tRNA 的专一性识别密切相关的. 不同结构域之间的不同组合通常使 AARS 产生了不同的催化专一性, 但它也可能对其专一性识别没有影响, 如 I 和 II 类 LysRS^[16]; 同样, 类似序列的 AARS 也可在某些生物中具有不一致的专一性, 如 ProCysRS. 这些 AARS 的结构、专一性识别作用及其进化的关系仍有许多不清楚的问题有待进一步研究. 从目前有关的研究进展来看, 有关 AARS 结构与功能的研究, 已经转移到主要研究功能的多样性与结构的关系, 以期弄清 AARS 与 tRNA 结合的专一性及“兼容性”与序列和结构的关系上, 这将加深人们对酶专一性的理解. 蛋白质通常以结构域为单位独立进行结构与功能的演化, 因此, 就 AARS 中与 tRNA 识别相关的各种结构域分别进行比较研究是非常必要的. 通过对不同蛋白质的这类结构类似且功能相关的结构域进行比较研究, 将有可能揭示 AARS 功能的专一性、“兼容性”及其与进化的关系和规律.

参 考 文 献

- 1 Curnow A W, Ibba M, Soll D. tRNA-dependent asparagine formation. *Nature*, 1996, **382** (6592): 589~ 590
- 2 Ibba M, Soll D. Aminoacyl-tRNA synthesis. *Annu Rev Biochem*, 2000, **69**: 617~ 650
- 3 Jakubowski H, Goldman E. Editing of errors in selection of amino acids for protein synthesis. *Microbiol Rev*, 1992, **56** (3): 412 ~ 429
- 4 Bishop A C, Nomanbhoy T K, Schimmel P. Blocking site-to-site translocation of a misactivated amino acid by mutation of a class I tRNA synthetase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, **99** (2): 585 ~ 590
- 5 Fukai S, Nureki O, Sekine S, *et al.* Structural basis for double-sieve discrimination of L-valine from L-isoleucine and L-threonine by the complex of tRNA (Val) and valyl-tRNA synthetase. *Cell*, 2000, **103** (5): 793~ 803
- 6 Wolf Y I, Aravind L, Grishin N V, *et al.* Evolution of aminoacyl-tRNA synthetase analysis of unique domain architectures and phylogenetic trees reveals a complex history of horizontal gene transfer events. *Genome Reseach*, 1999, **9** (8): 689~ 710
- 7 Simos G, Segref A, Fasiolo F, *et al.* The yeast protein Arc1p binds to tRNA and functions as a cofactor for the methionyl- and glutamyl-tRNA synthetases. *EMBO J*, 1996, **15** (19): 5437~ 5448
- 8 Koonin E V, Wolf Y I, Aravind L. Protein fold recognition using sequence profiles and its application in structural genomics. *Adv Protein Chem*, 2000, **54**: 245~ 275
- 9 Aravind L, Koonin E V. A novel family of predicted phosphoesterases includes *Drosophila* prune protein and bacterial RecJ exonuclease. *Trends Biochem Sci*, 1998, **23** (1): 17~ 19
- 10 Lipman R S, Hou Y M. Aminoacylation of tRNA in the evolution of an aminoacyl-tRNA synthetase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, **95** (23): 13495~ 13500
- 11 Lenhard B, Orellana O, Ibba M, *et al.* tRNA recognition and evolution of determinants in seryl-tRNA synthesis. *Nucleic Acids Research*, 1999, **27** (3): 721~ 729
- 12 Hendrikson T L. Recognizing the D-loop of transfer RNAs. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, **98** (24): 13473~ 13475
- 13 Shimada A, Nureki O, Goto M, *et al.* Structural and mutational studies of the recognition of the arginine tRNA-specific major identity element, A20, by arginyl-tRNA synthetase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, **98** (24): 13537~ 13542
- 14 Brown J R, Doolittle W F. Gene descent, duplication, and horizontal transfer in the evolution of glutamyl- and glutamyl-tRNA synthetases. *J Mol Evol*, 1999, **49** (4): 485~ 495
- 15 Shiba K, Motegi H, Yoshida M, *et al.* Human asparaginyl-tRNA synthetase: Molecular cloning and the inference of the evolutionary history of Asx-tRNA synthetase family. *Nucleic Acids Research*, 1998, **26** (22): 5045~ 5051
- 16 Terada T, Nureki O, Ishitani R, *et al.* Functional convergence of two lysyl-tRNA synthetases with unrelated topologies. *Nat Struct Biol*, 2002, **9** (4): 257~ 262
- 17 Ibba M, Losey H C, Kawarabayasi Y, *et al.* Substrate recognition by class I lysyl-tRNA synthetases: A molecular basis for gene displacement. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, **96** (2): 418~ 423
- 18 Stathopoulos C, Li T, Longman R, *et al.* One polypeptide with two Aminoacyl-tRNA synthetase activities. *Science*, 2000, **287** (5452): 479~ 482
- 19 Woese C R, Olsen G J, Ibba M, *et al.* Aminoacyl-tRNA synthetases, the genetic code, and the evolutionary process. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2000, **64** (1): 202~ 236
- 20 Stathopoulos C, Kim W, Li T, *et al.* Cysteiny-tRNA synthetase is not essential or viability of the archaeon *Methanococcus maripaludis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, **98** (25): 14292 ~ 14297

Evolution of Structures and Specific Recognitions in Aminoacyl-tRNA Synthetases^{*}

LIN Jun^{1,2)}, HUANG Jing-Fei¹⁾^{**}

⁽¹⁾Key Laboratory of Cellular and Molecular Evolution, Kunming Institute of Zoology,
The Chinese Academy of Sciences, Kunming 650223, China;

²⁾Graduate School of The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China)

Abstract The aminoacyl-tRNA synthetases (AARS) are very important during the protein biosynthesis, which can make the gene sequence be accurately translated into the protein sequence by the specific recognition between AARS and tRNA/ amino acids. However, the recognition between AARS and tRNA/ amino acids can be either specific or compatible, which is not only related with evolution of AARS structures, but also with the different evolutionary stage of life organisms containing AARS. AARS could undergo a evolutionary process from “ambiguous specificity” (multiple specificities) to “accurate specificity” (single specificity).

Key words aminoacyl-tRNA synthetase, specific recognition, sequence and structure homology, functional evolution

^{*} This work was supported by grants from The National Natural Sciences Foundation of China (30170507, 30024004) and Yunnan Provincial Natural Sciences Foundation of China (1999C0084M).

^{**} Corresponding author. Tel: 86-871-2862753, E-mail: hjf58117@public.km.yn.cn

Received: April 26, 2002 Accepted: May 28, 2002