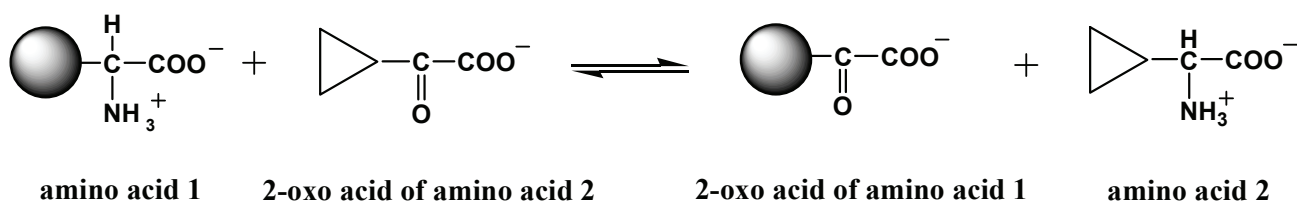


PLP 依存型酵素 TTHA0173 の基質認識機構

Substrate recognition of putative PLP-dependent enzyme, TTHA0173

松村光義¹, 後藤 勝^{1,2}, 近江理恵¹, 広津 建^{1,2}, 水口博之³, 林 秀行³, 宮原郁子^{1,2}Mitsuyoshi Matsumura¹, Masaru Goto^{1,2}, Rie Omi¹, Ken Hirotsu^{1,2},Hiroyuki Mizuguchi³, Hideyuki Hayashi³, Ikuko Miyahara^{1,2}(¹大阪市大・院理, ²理研・播磨研, ³大阪医大・生化学)(¹Grad. Sch. Sci., Osaka City Univ, ²RIKEN/Harima Inst.,³Dept. of Biochem. Osaka Med.Coll.)e-mail: miyahara@sci.osaka-cu.ac.jp

ピリドキサル 5'-リン酸(PLP)を補酵素とする酵素群は、多彩な反応を触媒し、アミノ酸代謝系で重要な役割を担っている。百種類を超える PLP 酵素群は、アミノ酸配列より fold type I ~ IV に分類される。理由は明らかではないが、fold type I に属する PLP 酵素が圧倒的に多い。TTHA0173 は fold type I に属するアミノ基転移酵素である。一般的にアミノ基転移酵素ではアミノ酸 1 のアミノ基を 2-オキソ酸 2 に転移して 2-オキソ酸 1 とアミノ酸 2 を生成するという可逆な反応を触媒している (基質二重認識)。



TTHA0173 はネイティブの立体構造から、DALI を用いてヒトのセリン：ピルビン酸-アラニン：グリオキシル酸 アミノ基転移酵素と高い相同性を持っているが、活性測定よりグルタミン酸：ピルビン酸アミノ基転移酵素(GPT)とするのがよりよさそうであることが分かった。(第6回連携研究会にて発表)。そこで、この TTHA0173 のグルタミン酸、およびアラニンの基質認識機構をあきらかにするため、PLP 型酵素に 2-メチルグルタミン酸(2-MeGlu)、2-メチルアラニン(2-MeAla)を加えて結晶化を行い、それぞれの構造を決定した。基質アナログとなるアミノ酸の 2-メチル誘導体は、酵素に結合したのち PLP と Schiff 塩基を形成したところで反応が止まるので、実際の基質の結合モデル構造となる。

2-MeGlu と 2-MeAla の複合体はそれぞれ、1.5 Å という高分解能で構造決定を行うことができ、加えた基質アナログはどちらも PLP と Schiff 塩基を形成して酵素内に結合していた。それぞれの構造をネイティブ構造と重ね合わせて比較すると、基質結合による全体構造の変化はほとんど無いことが分かった。2つの基質の α-カルボキシル基は、どちらも結合様式は全く同じで、Arg326 との塩橋と水分子により認識されていた。基質のアラニンが結合する場合には、PLP のリン酸と水素結合し、基質の側鎖と疎水性の相互作用をしていた Tyr229 の側鎖が、基質のグルタミン酸が結合する場合には大きく溶媒側へと動いていることが分かった。