

Thermus thermophilus 由来のグルタミン酸脱水素酵素の活性調節機構の解析
Regulatory mechanism of glutamate dehydrogenase from *Thermus thermophilus*

富田武郎、宮崎高志、宮崎淳一、葛山智久、西山真

Takeo Tomita, Takashi Miyazaki, Jun-ichi Miyazaki, Tomohisa Kuzuyama,

Makoto Nishiyama

(東大・生物生産工学研究センター)

(Biotechnology Research Center, The University of Tokyo)

e-mail: uttomi@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp

グルタミン酸脱水素酵素(GDH)は、NAD(H)または NADP(H)を補酵素として用い、グルタミン酸(Glu)の酸化脱アミノ化と 2-オキシグルタル酸(2-OG)の還元的アミノ化を可逆的な反応を触媒する酵素である。GDH はアンモニア同化や異化に重要であるだけでなく、*T. thermophilus* のリジン生合成の基質であり、TCA サイクルの中間体でもある 2-OG と、Arg, Pro, Orn のようなアミノ酸の生合成における初発物質であるグルタミン酸の間の変換を行うことから、窒素代謝、アミノ酸代謝に重要な役割を担うと考えられる。私たちは、これまでに *T. thermophilus* のゲノム上にお互いに 50%近いアミノ酸配列相同性を有する *gdh* ホモログ遺伝子が2つ並んで存在する(*gdhA*, *gdhB*)ことを見出し、これらのうち *gdhA* は GDH 活性をはじめとした脱水素酵素活性を持たないのに対して、*GdhB* は酸化脱アミノ化よりも還元的アミノ化反応に強い活性を示した。さらに、活性を持たない *GdhA* を *GdhB* の反応液に加えたときに酸化脱アミノ化の活性上昇、還元的アミノ化反応の活性の低下を観察した。また、両タンパク質の大腸菌における共発現、精製から両者がヘテロな複合体を形成することが明らかになっており、*GdhA* を介した GDH の活性調節機構が存在することが示唆された。

T. thermophilus の GDH(*GdhA*/*GdhB*)が低分子のエフェクターによるアロステリックな活性調節を受ける可能性を考え、これまでに別の生物種の GDH で知られている低分子(核酸やアミノ酸)による影響を調べた。その結果、ヒトの GDH1, GDH2 で知られているロイシンをはじめとした疎水性アミノ酸や芳香族アミノ酸などで顕著な還元的アミノ化と酸化脱アミノ化反応の活性化が見られた(それぞれロイシンで 10 倍、2.5 倍)。これに対して GDH の活性の本体と考えられる *GdhB* 単独の酵素はそのような顕著な活性化を示さなかった。共精製した *GdhA*/*GdhB* についてゲルろ過クロマトグラフィーを行った結果、*GdhA*/*GdhB* は *GdhA* と *GdhB* がそれぞれ単体の場合と同様の溶出プロファイルを示した。このことは両者がこの条件で解離していることを示している。次いで、ロイシンを添加しゲルろ過を行った結果、両者が同時に溶出された。このことから *GdhA*/*GdhB* の複合体形成がロイシンにより促進されることが示唆された。以上のことから *T. thermophilus* の GDH がロイシンにより促進されるヘテロ複合体の形成を介した活性調節機構を持つことが示唆された。