

細胞壁合成に関わる酵素 D-Alanine:D-Alanine ligase の基質認識機構

北村 吉章<sup>1</sup> 広津 健<sup>1</sup> 倉光 成紀<sup>1,2</sup>

Yoshiaki Kitamura<sup>1</sup>, Ken Hirotsu<sup>1</sup>, Seiki Kuramitsu<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>理研播磨研 放射光システム生物学研究グループ <sup>2</sup>阪大・院理・生物)

(<sup>1</sup>SR System Biology Research Group, RIKEN SPring-8 Center, Harima Inst., <sup>2</sup>Osaka Univ.)

e-mail:yoshiaki@spring8.or.jp

高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 は図1のような形をした桿菌である。細胞表層の細胞壁が細菌の形態を一定に保ち、外界からの圧力などに抵抗し、細胞内の環境を物理的に保護する役割を果たしている。その細胞壁の主成分はペプチドグリカンであるが、そのペプチドグリカン合成系システムのタンパク質群 (図2) について解析を進めている。細胞壁はヒトに存在しないため、抗菌剤開発のターゲットとなるタンパク質が、この細胞壁合成システム中に多く存在することが知られている。その例として、ホスホマイシン、D-サイクロセリン、β-ラクタム系抗生物質などが阻害する反応過程を図2に示す。



図1 高度好熱菌 *T. thermophilus* HB8 の透過型電子顕微鏡像

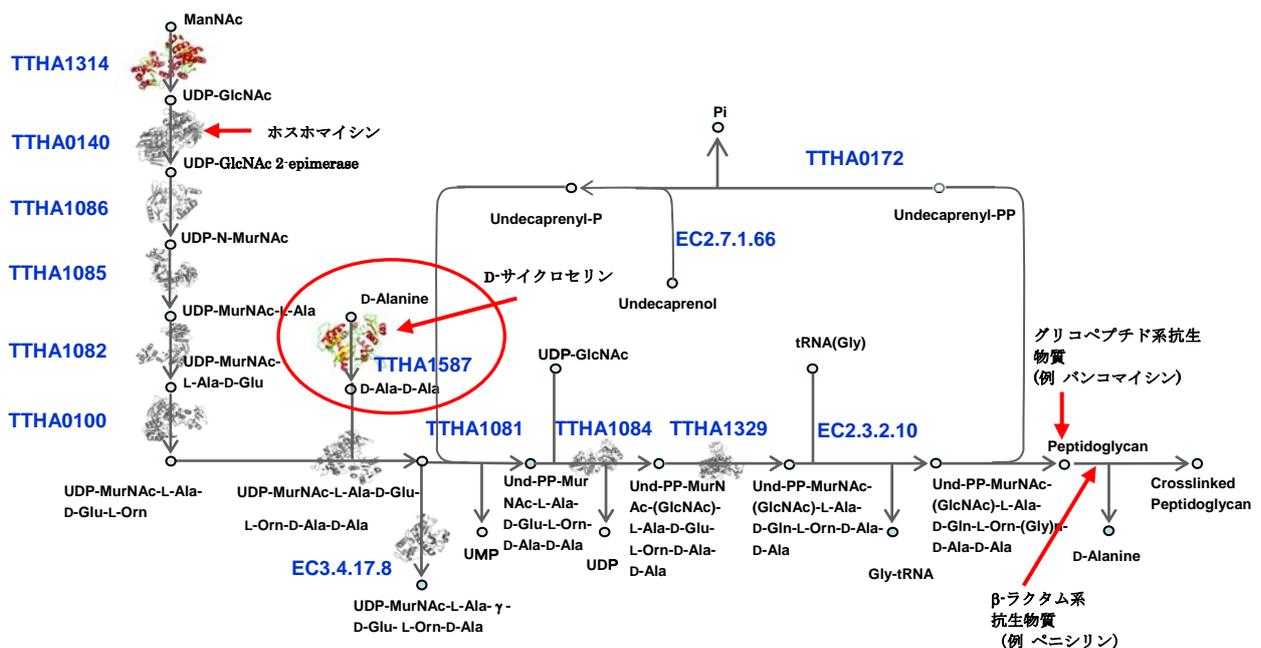


図2 高度好熱菌 *T. thermophilus* HB8 のペプチドグリカン合成系システムおよび反応過程を阻害する抗生物質の例

ペプチドグリカンには図3のような構造をしている。N-アセチルグルコサミン(GlcNAc)とN-アセチルムラミン酸(MurNAc)の2つの糖と末端がD-Ala-D-Alaであるペプタペプチドを構成単位としており、細胞壁合成の過程でペプチド鎖間の架橋が起こる。その際に、末端のD-Alaが放出され、2つめのD-Alaが隣接するペプチドと架橋を形成し、ペプチドグリカンは強固な網目構造となる。

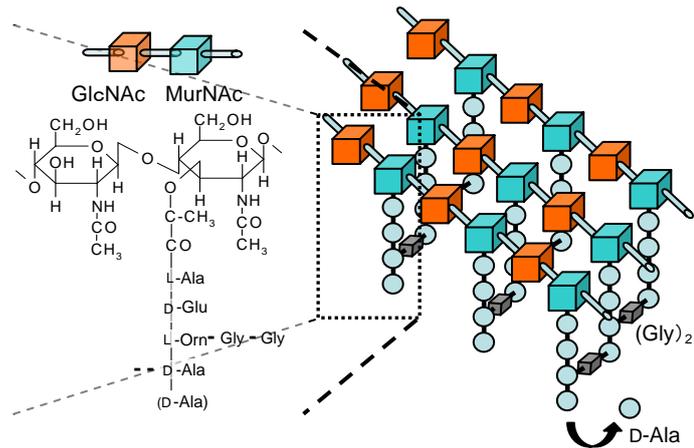


図3 ペプチドグリカンモデル

架橋反応に関与するペプチド鎖のD-Ala-D-Ala部分は、2つのD-AlaとATPを基質とするD-Ala-D-Ala ligaseによって合成される(図4および図2)。この酵素の基質認識機構を解析するために、基質との反応速度論的解析を行うとともに、さらに様々な基質や基質類似物質との共結晶を作製してX線結晶解析を行った。その結果、基質結合に伴う活性部位の構造変化が明らかになり、3つの基質が結合する順序を推定することができたので報告する。

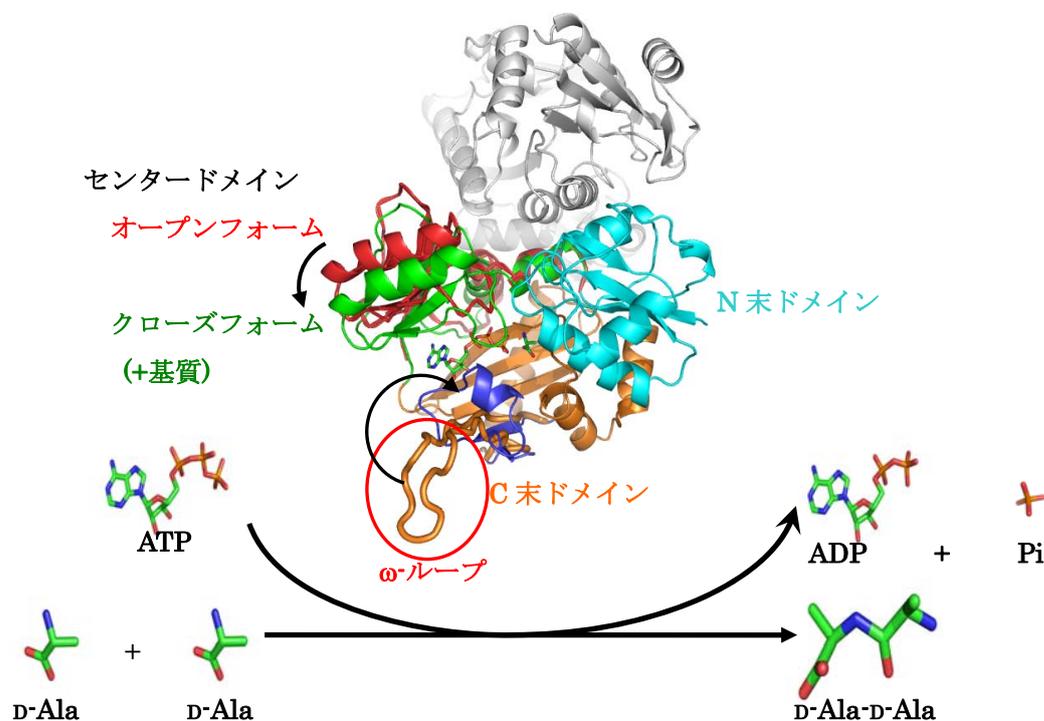


図4 D-Ala-D-Ala ligaseの反応

本酵素は二量体で働くが片方のサブユニットについて示す。N末ドメインをシアン、センタードメインを赤、C末ドメインをオレンジで色分けした。基質が結合することによりオープンフォームからクローズフォームへと構造変化が起こる。2つの構造をN末ドメインとC末ドメインで重ね合わせて表示している。基質が結合することにより、センタードメインがC末ドメインの方へ約 $10^\circ$ 動き(緑)、 $\omega$ -ループが閉じる(青)