

シチジン特異的なヌクレオシドキナーゼの基質認識機構の解明

Substrate recognition mechanism of cytidine-specific nucleoside kinase

友池史明¹, 中川紀子^{2,3}, 増井良治^{2,3}, 倉光成紀^{1,2,3}Fumiaki Tomoike¹, Noriko Nakagawa^{2,3}, Ryoji Masui^{2,3}, Seiki Kuramitsu^{1,2,3}(¹ 阪大・院生命機能, ² 阪大・院理・生物科学, ³ 理研・播磨/Spring-8)(¹ Grad. Sch. Frontier Biosci., Osaka Univ., ² Grad. Sch. Sci., Osaka Univ., ³ RIKEN SPring-8 Center, Harima Inst.)e-mail: tomoike@fbs.osaka-u.ac.jp

サルベージ経路は、核酸やヌクレオチドの分解産物からヌクレオチドを合成するサブシステムであり、ほとんどの生物がもつ重要な経路である (図 1)。しかし、図 2 に示した通り、この経路の最初で働く酵素の一群であるヌクレオシドキナーゼは生物界においてあまり同定されておらず、まだ理解の進んでいないサブシステムの一つである。このサブシステムを理解するために、特定の生物種のタンパク質を網羅的に解析し、代謝システム全体を明らかにしたいと考えた。ほぼすべての遺伝子がクローニング済みであり、さらにタンパク質が安定であることから、高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 はこの網羅解析の対象として非常に適した生物種と考えられる。

本研究では、ヌクレオチド代謝システムを理解する一環として、*T. thermophilus* HB8 の持つ唯一のヌクレオシドキナーゼとされる TTHA0578 の構造機能解析を行った。

機能解析

TTHA0578 はシークエンスから、uridine-cytidine kinase (UCK) のホモログである。基質特異性を調べたところ、TTHA0578 はこれまで報告されている他種の UCK と異なり、シチジンに対してのみ活性を示し、ウリジンに対しては活性を示さなかった。

立体構造解析

上記の基質認識機構を明らかにするために、TTHA0578 のX線結晶構造解析を行った。TTHA0578 のヌクレオシド結合部位において、シチジン特異的な基質認識に関与する 2 つのアミノ酸残基が推定された。それらのアミノ酸残基について変異体実験を行い、シチジン特異的な認識機構を解明した。

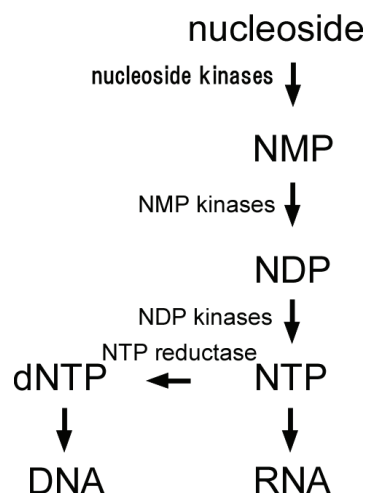


図 1 ヌクレオシドサルベージ経路

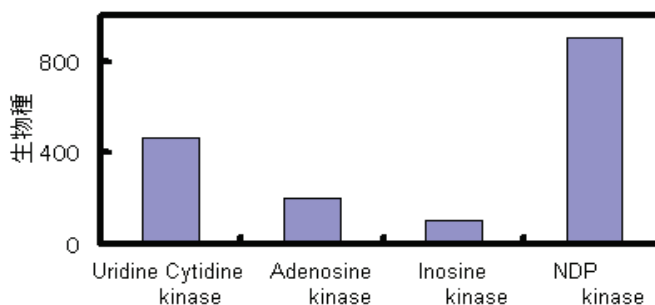


図 2 各種ヌクレオシドキナーゼおよび NDP キナーゼを有するの生物種の数