

高度好熱菌由来ホモセリン脱水素酵素の結晶構造解析
Crystal Structure Analysis of Homoserine Dehydrogenase
From *Thermus thermophilus*

森 まり萌¹, 近江理恵^{1,2}, 広津 建^{1,2}, 神谷信夫^{1,2}, 宮原郁子^{1,2}
 Marimo Mori¹, Rie Omi^{1,2}, Ken Hirotsu^{1,2}, Nobuo Kamiya^{1,2}, Ikuko Miyahara^{1,2}
 (¹ 大市大・院理, ² 理研・播磨研)
 (¹ Grad. Sch. Sci., Osaka City Univ., ² RIKEN/Harima Inst.)
 e-mail: marimo@sci.osaka-cu.ac.jp

ホモセリン脱水素酵素は、L-ホモセリンと NAD(P)⁺ から L-アスパラギン酸-4-セミアルデヒドと NAD(P)H を生成する反応を触媒する酵素である。高度好熱菌由来ホモセリン脱水素酵素(ThrA)は 331 残基からなる酵素である。今回結晶化条件の異なる 2 種類の Native 結晶(Type I と TypeII)と複合体結晶の 3 つの構造解析を行った。

Type I 結晶の空間群は C222、分解能は 1.4 Å で構造精密化を行った結果、*R* 因子、*R*_{free} はそれぞれ 22.0%、24.1% となった。非対称単位中に含まれる 2 つのダイマー構造は、ダイマー間、サブユニット間で構造の大きな違いはなかった。N 末端側の Met1 - His120 と Gly291 - Ala309 からなるヌクレオチド結合ドメイン(赤色)は α/β Rossmann fold を形成している。Glu121 - Ser140 と Asp261 - Pro287 からなる二量体化ドメイン(緑色)はダイマーを形成しているもう一方のサブユニットの同じドメインと合計 5 本のストランドからなる β シートを作っている。Glu141 - Gln260 からなる基質結合ドメイン(青色)はホモセリンキナーゼ特有のモチーフで、flexible tail を形成する C 末端の残基(Ala309 - Val331)がヌクレオチド結合ドメインから伸びてきている。二量体化ドメインとヌクレオチド結合ドメインの間のループ構造には結晶化溶媒に含まれるマグネシウムイオンが結合していた。



図1. C222 の二量体構造

TypeII 結晶の空間群は P1、分解能 1.6 Å で構造精密化を行った結果、*R* 因子、*R*_{free} はそれぞれ 19.3%、23.3% となった。空間群 P1 も非対称単位内にダイマーが 2 つ存在するが、ダイマー間、サブユニット間で大きな違いはなく、C222 の構造ともよく似ていた。また、C222 に含まれていたマグネシウムは P1 では結晶化溶媒に含まれるナトリウムが、同じ位置に存在していた。



図2. Native の結晶

ThrA の基質結合様式と反応機構を明らかにするために、ホモセリンと NAD アナログの複合体結晶を共結晶化によって作成した。この結晶の空間群は P3₂21、分解能 2.4 Å までの回折データを収集することができた。ThrA の Native 構造をモデル分子とし、分子置換法により位相決定をおこなった。電子密度マップよりホモセリンのモデルを置くことができたが、NAD アナログについては電子密度が不明瞭であった。