

Double Substrate Recognition of Acetylornithine Aminotransferase

アセチルオルニチンアミノ基転移酵素の基質二重認識

Ikuko Miyahara^{1,2}, Mitsuyoshi Matsumura^{1,2}, Masaru Goto¹, Rie Omi¹, Ken Hirotsu^{1,2}

宮原郁子¹, 松村光義, 後藤 勝, 近江理恵, 広津 建^{1,2}

(¹Grad. Sch. Sci., Osaka City Univ., ²RIKEN Harima Inst.,)

(¹大阪市立大・院・理, 理研・播磨²)

e-mail: miyahara@sci.osaka-cu.ac.jp

ピリドキサーール 5'-リン酸 (PLP)を補酵素とするアミノ基転移酵素群は、下式に示すように本質的に同じ2つの半反応(1)と(2)からなるピンポン Bi-Bi 反応を触媒する。酵素に固有のアミノ酸の α -アミノ基を PLP に転移して、ピリドキサミン 5'-リン酸 (PMP) と固有のアミノ酸の α -ケト酸を生成する(1)。次に α -ケトグルタル酸は PMP からアミノ基を受け取り、PLP を再生しグルタミン酸を生成する (2)。これら2つの半反応は平衡反応であり、全反応も平衡反応である。



一般的にアミノ基転移酵素では(1)の反応において、酵素固有のアミノ酸を基質として用い、(2)では共通のアミノ酸であるグルタミン酸を基質とする (基質二重認識)。また、2種類の基質アミノ酸はいずれも PLP とシッフ塩基を作らねばならないため、同じ活性部位が使われることになる。つまり、性質の異なる基質アミノ酸の側鎖は同じ場所、あるいは近接した場所で認識されているということになる。例えば、芳香族アミノ酸アミノ基転移酵素(AroAT)では、固有のアミノ酸は芳香族アミノ酸である。したがって、AroAT は側鎖の形状と性質の異なる2種類のアミノ酸 (芳香族アミノ酸とグルタミン酸) を、生体中に存在する他の多くの低分子の中から特異的に認識する機構を持っている。この酵素の構造解析の結果では、基質結合時において2種類のアミノ酸いずれの場合も同様な大きなコンホメーション変化が起こり、側鎖の位置も同じであった。しかしながら、活性部位のアミノ酸側鎖の配置はそれぞれで大きく異なっていた。基質の α -アミノ基の認識は共通の認識機構を用いているが、2つの基質で性質が異なる側鎖の部分はコンホメーション変化のみによる大掛かりな水素結合ネットワークの組み換えを行って認識していることがわかった。我々はこのようなアミノ基転移酵素の X 線解析を行い、立体構造を基に如何にしてそれぞれの酵素が形や性質の異なる側差を認識するのかを明らかにしてきた [1]。

アセチルオルニチンアミノ基転移酵素 (AcOAT)は、アセチルオルニチンとグルタミン酸を基質とする。AcOATは、グルタミン酸を結合し、一般のアミノ基転移酵素と同様に α -アミノ基がPLPとシッフ塩基を形成するが、アセチルオルニチンが結合する場合は、 δ -アミノ基とシッフ塩基を形成する。したがって、アセチルオルニチンの α -カルボキシル基とグルタミン酸の γ -カルボキシル基が活性部位のほぼ同じ位置に結合すると予測される。さらにグルタミン酸の α -カルボキシル基が結合する場所に、アセチルオルニチンの場合カルボキシル基が存在しないということになる。そこで、この二重認識機構を明らかにするため、AcOATのネイティブ酵素、およびそれぞれの基質とPLPのシッフ塩基を還元した基質一補酵素アナログをAcOATのアポ酵素に再構成した酵素を作成し、各々のX線構造解析を行った。アナログを再構成した酵素の構造とネイティブ酵素の構造をC α 炭素どうしの重ね合わせをおこなうとほぼ完全に重なり、基質結合時には大きな構造変化は無いことが判った。

