

トリパノソーマのグリセロールリン酸化酵素の X 線結晶構造解析

X-ray crystal structure analysis of Trypanosome glycerol kinase

エマニュエルバログン¹、志波智生²、稲岡ダニエル健¹、原田繁春²、北潔¹¹ 東京大学大学院医学系研究科生物医化学教室、〒113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1² 京都工芸繊維大学大学院工芸科学研究科応用生物、〒603-8585 京都市左京区松ヶ崎橋上町Emmanuel Oluwadare Balogun¹, Tomoo Shiba², Daniel Ken Inaoka¹,Shigeharu Harada², Kiyoshi Kita¹¹ Graduate School of Medicine, The University of Tokyo, Tokyo 113-0033, Japan² Department of Applied Biology, Graduate School of Science and Technology, Kyoto Institute of Technology, Kyoto 606-8585, Japan

1 はじめに

アフリカ睡眠病は、ツェツェバエが媒介する寄生性原虫のトリパノソーマの感染によって引き起こされ年間約30,000人が死亡するアフリカの風土病である。現在ある治療法には毒性や薬剤投与の困難さ、重大な副作用などの問題があり、より安全な治療薬の開発が必要とされている。トリパノソーマは、ツェツェバエ内にいる時と宿主である哺乳類の血液中にいる時とは、エネルギーの代謝経路が大きく異なっている。宿主の血液中での本原虫の ATP 合成は主に解糖系が行っている。この解糖系を常に進行させるために、原虫のミトコンドリア内膜中に存在する Trypanosome Alternative Oxidase (TAO) が NADH 再酸化系の末端酸化酵素として機能している。また、トリパノソーマ特有の細胞小器官であるグリコソーム内のグリセロールリン酸化酵素(GK)の働きによっても ATP が生産されるので、TAO と GK の両方が抗トリパノソーマ症の薬剤標的タンパク質である。我々はすでに TAO と阻害剤との複合体の立体構造を明らかにしてきたが[1]、今回 GK と様々な基質や生成物との複合体の結晶構造を明らかにし、反応機構についての知見を得ることに成功した[2]。

2 実験

GK の結晶は、25% PEG400, 11% 1,6-ヘキサンジオール, 0.1 M HEPES (pH=6.8) をリザーバー溶液としたときに得られた。基質や生成物との複合体の結晶は、それらの化合物が溶解したクライオプロテクトANT溶液に soaking することにより調整した。作成した結晶の X 線回折強度データの収集は、KEK-PF の BL17A や SPring-8 の BL41XU や BL44XU などを利用して行った。構造解析は、すでに結晶構造が報告されているマラリア原虫のグリセロールリン酸化酵素の構造をモデル分子とした分子置換法で行った。複合体の結晶構造は、apo 体の構造をモデル分子として用いた分子置換法により決定し、活性部位に明瞭な電子密度を確認することができたので、対応する化合物を電子密度にあてはまるようにおいて、さらに構造の精密化を行った。

3 結果および考察

apo 型で分解能 2.9 Å、基質であるグリセロールとの複合体で分解能 2.4 Å、反応生成物である ADP との複合体で分解能 1.9 Å、もう 1 つの反応生成物であるグリセロール-3-リン酸(G3P)との複合体で 2.7 Å の結晶構造を明らかにすることができた。

得られたトリパノソーマの GK の構造を図 1 に示す。GK は、結晶中で強固な二量体を形成しており、それぞれのサブユニットは 2 つのドメインから構成されていた。活性部位は、2 つのドメインの間のクレフトに存在しており、基質や反応生成物が結合している様子が確認することができた。

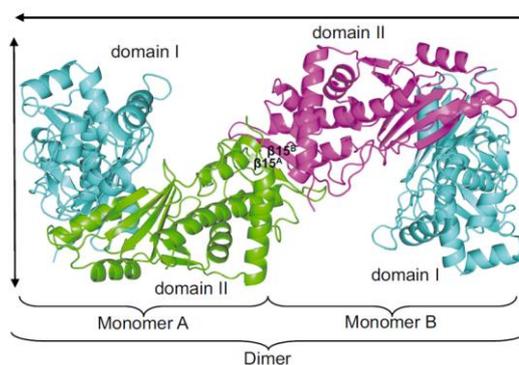


図 1. トリパノソーマの GK の全体構造

4 まとめ

TAO と GK の阻害剤を併用することでより効率よく抗トリパノソーマ作用を示すことから、両者の更なる阻害剤の開発を行っていきたいと考えている。

謝辞

X 線回折強度データ測定においては、PF スタッフの方々に大変お世話になりました。ここに感謝致します。

参考文献

- [1] T. Shiba *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **110**, 4580-4585 (2013).
 [2] E.O. Balogun *et al.*, *Mol Microbiol.*, **94**, 1315-1329 (2014)

* tshiba@kit.ac.jp