

マロニル CoA デカルボキシラーゼの活性制御の構造基盤 Structural basis for regulation of malonyl-CoA decarboxylase

宮崎剛壱^{1,*}, 加藤竜也¹, 朴龍洙¹¹静岡大学グリーン科学技術研究所 〒422-8529 静岡県静岡市駿河区大谷 836Takatsugu MIYAZAKI^{1,*}, Tatsuya KATO¹ and Enoch Y. PARK¹¹Research Institute of Green Science and Technology, Shizuoka University,
836 Ohya, Suruga-ku, Shizuoka, 422-8529, Japan

1 はじめに

近年、高エネルギー食の摂取や慢性的な運動不足に伴い、肥満人口が増加しており、2型糖尿病や高血圧などの生活習慣病が世界的な問題となっている。そのため、肥満を抑制・治療する薬の開発が求められており、脂肪代謝経路やそれに関わる酵素の機能や制御機構の解明は重要な課題とされている。脂質代謝は細胞内のマロニル CoA 量が影響しており、アセチル CoA カルボキシラーゼ (ACC, EC 6.4.1.2) およびマロニル CoA デカルボキシラーゼ (MCD, EC 4.1.1.9) の2種類の酵素がマロニル CoA 量を制御している。マロニル CoA が増加すると脂肪酸合成が促進され、カルニチンパルミトイル転移酵素 I (CPT-I) の阻害を介して脂肪酸分解 (β酸化) を抑制する[1]。このバランスが崩れると脂肪酸合成に偏り、脂肪酸が蓄積する。ACC や MCD は翻訳後修飾であるリン酸化あるいはアセチル化により、酵素活性が巧妙に制御されていることが報告されているが[2,3]、MCD の活性制御の分子機構は未だ明らかにされていない。本研究では、MCD のリシン残基のアセチル化による活性制御の構造基盤の解明を目的とし、X線結晶構造解析を行った。

2 実験

N末端 39 アミノ酸残基を欠損させ、FLAG タグを付加した組換えヒト MCD をカイコ蛹で発現させた[4]。蛹をホモジナイズし、遠心後、その上清を抗 FLAG タグ抗体アフィニティークロマトグラフィーに供し、さらにゲル濾過クロマトグラフィーで単一になるまで精製した。精製したタンパク質を 6 mg/mL 程度まで濃縮し、0.1 M マロン酸ナトリウム緩衝液 (pH 4.0–4.5)、5–12% PEG3350 または PEG8000 の存在下、20°C でハンギングドロップ蒸気拡散法にて結晶化させた。また、反応生成物であるアセチル CoA をソーキングした結晶やリシン残基がアセチル化された MCD (AcK-MCD) の結晶も作製した。X線回折実験は PF BL-5A および AR-NW12A ビームラインで行った。

3 結果および考察

MCD は上記の条件下で、直方体またはバイピラミッド型の2つの形状の単結晶が生成した。前者は最高でも 3.4 Å、後者は 6.0 Å 程度の低分解能であり、それぞれ P2 または六方晶系の空間群に属していた。また、AcK-MCD や生成物であるアセチル CoA をソーキングで作製した複合体結晶も同様に 3.5–4.0 Å 分解能で回折データを収集した。いずれも既報のヒト MCD の結晶構造[5,6]を鋳型に分子置換法により構造決定を行った。大部分の主鎖構造を決定することができ、ホモ四量体を形成していることが確認できた。しかしながら、低分解能であり、アセチル化されているリシン残基側鎖の電子密度が不明瞭であるため、モデルを構築することはできなかった。また、活性部位には生成物であるアセチル CoA と考えられる電子密度が観測された。今後、高分解能のデータを得られるように、結晶化条件や抗凍結剤の検討を行う予定である。

4 まとめ

脂質代謝に関わる酵素 MCD のアセチル化による活性制御の分子機構を明らかにするため、リシン残基をアセチル化した MCD および生成物であるアセチル CoA との複合体の X線結晶構造解析を行った。より高分解能での構造解析を行うため、引き続き条件検討を行う。

謝辞

X線回折実験を行うにあたり、ご協力いただきました PF スタッフの方々に感謝申し上げます。

参考文献

- [1] D. Saggerson, *Annu. Rev. Nutr.* **28**, 253–272 (2008).
- [2] M. Hunkeler *et al.*, *Nature* **558**, 470–474 (2018).
- [3] G. Laurent *et al.*, *Mol. Cell* **50**, 686–698 (2013).
- [4] I.-W. Hwang *et al.*, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **99**, 8977–8986 (2015).
- [5] D. Aparicio *et al.*, *J. Biol. Chem.* **288**, 11907–11919 (2013).
- [6] D.S. Froese *et al.*, *Structure* **21**, 1182–1192 (2013).

* miyazaki.takatsugu@shizuoka.ac.jp