

## 好気性超好熱性古細菌のマルチコンポーネント酸化還元酵素の構造解析 Crystallography of multi-component oxidoreductases from Archaea

伏信進矢\*, 宋賢珍, イェンチェン, 若木高善

東京大学大学院農学生命科学研究科、〒113-8657 東京都文京区弥生 1-1-1

### 1 はじめに

好気性超好熱性古細菌 *Sulfolobus tokodaii* は pH 2-3、75-80°C の条件で至適に生育する好酸性超好熱性古細菌であり、半リン酸化 Entner-Doudoroff (ED) 経路と呼ばれる非常に変わった解糖系を持つ。また、好気性生物であるため、解糖系・TCA サイクル・呼吸鎖によりエネルギーを生産している。その中央代謝経路において、解糖系と TCA サイクルの両方で重要な段階に関わるマルチコンポーネント酸化還元酵素として、ピルビン酸/ケトグルタル酸：フェレドキシン酸化還元酵素 (PKOR) がある[1]。通常の生物でピルビン酸、2-オキソグルタル酸などの 2-オキソ酸の酸化的脱炭酸反応を触媒するのは、NAD(P)<sup>+</sup> を電子受容体とする分子量数百万におよぶ巨大酵素複合体で、補酵素としてチアミンニリン酸 (TPP)、リボ酸、FAD を持つが、それに対して、古細菌では TPP と鉄硫黄クラスターを持つ分子量 10 万程度の比較的単純な酵素が同様の反応を触媒する。同じファミリーに属する酵素の立体構造としては、嫌気性細菌 *Desulfovibrio africanus* の酵素の構造しか知られておらず、好気性細菌である *S. tokodaii* の PKOR はこれと配列相同性が非常に低い。我々は PKOR の結晶構造の決定を目的の一つとしている。

一方、*S. tokodaii* を含む好熱菌 (古細菌およびバクテリア) の糖新生経路において、2 段階の連続する反応を触媒する二機能酵素 FBP アルドラーゼ/ホスファターゼ (FBPA/P) が発見された[2]。我々は以前この酵素のホスファターゼ型の構造を決定しており[3]、今回はこのアルドラーゼ型の構造を決定した。

超好熱性古細菌 *Thermoproteus tenax* は変形 Embden-Meyerhof 経路と変形 ED 経路の 2 種類の解糖系を持ち、前者の鍵となる段階で、ATP ではなくピロリン酸を利用してフルクトース 6-リン酸のリン酸化を触媒する酵素が、ピロリン酸依存性ホスホフルクトキナーゼ (TPFP) である。我々は、TPFP の特殊な基質特異性を解明するために構造決定を行った。

### 2 実験

今年度の前半は東日本大震災の発生による KEK の停止にともない、SPring-8 量子ビーム施設震災優先枠で実験を行った (2011 年 6 月 24 日 BL38B1 : 3 シフト)。後半は通常どおりに KEK-PF で実験を行った。

### 3 結果および考察

FBPA/P のアルドラーゼ型の結晶構造を決定し、その分子機構を解明することに成功した[4]。詳細は、PF Activity Report 2011 “Highlights” に記載している。

PKOR は native 結晶が得られて中程度 (約 3.0Å) の分解能のデータが測定できる段階まで来ており、現在最大で 2.5Å 分解能のデータセットが得られている。しかし、セレンメチオニン置換体の結晶の再現性が悪く、十分に大きな結晶がまだ得られていないため、位相決定には至っていない。

TPFP は構造決定に成功し (図 1)、FBP や F6P、ピロリン酸や Mg<sup>2+</sup> などのリガンドの存在下での構造が 1.8Å 程度の高分解能で得られている。

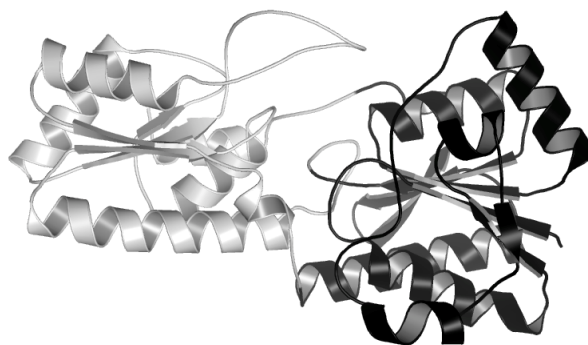


図 1 : TPFP の全体構造

### 謝辞

実験をサポートして下さった KEK および PF のみなさんに感謝いたします。震災枠での実験をサポートして下さった馬場清喜先生、熊坂崇先生をはじめとする SPring-8、JASRI のみなさんにも感謝いたします。

### 参考文献

- [1] Q. Zhang *et al.*, *J. Biochem* **120** (1996) 587.
- [2] R. F. Say and G. Fuchs, *Nature* **464** (2010) 1077.
- [3] H. Nishimasu *et al.*, *Structure* **12** (2004) 949.
- [4] S. Fushinobu *et al.*, *Nature* **478** (2011) 538.

\* asfushi@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp