

哺乳動物キサンチン酸化還元酵素の構造解析 Structural Analysis of Mammalian Xanthine Oxidoreductase.

岡本研*, 松村智裕, 草野輝男

日本医科大学生化学 (代謝・栄養)、〒113-8605 東京都文京区千駄木 1-1-5

複合金属酵素 (鉄とモリブデンを含む) であるキサンチン酸化還元酵素 (xanthine oxidoreductase = XOR) は 2 量体からなる分子量 30 万の巨大タンパク質であり、プリンが分解過程でキサンチンを代謝して尿酸に変換する機能を持つ。体内で過剰に産生された尿酸は痛風の原因物質であるため XOR の阻害剤は痛風、高尿酸血症の治療薬として医学的に重要な化合物である。また XOR は電子受容体として酸素と反応することもあり、生成される活性酸素種による組織障害を予防する意味でも阻害剤の開発、につながる反応機構解明は重要である。

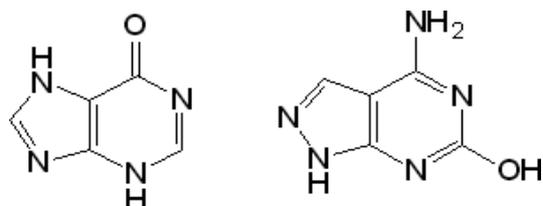


図 1. XOR の基質であるヒポキサンチン (左) 基質アナログである 4-amino, 6-hydroxy pyrazolo pyrimidine (右)

我々は PF,AR のビームラインを使用し、還元状態での尿酸結合型酵素の結晶構造を決定することで、天然基質であるキサンチンの水酸化機構を決定した。本課題においてはキサンチンのアナログである 4-amino, 6-hydroxy pyrazolo pyrimidine (図 1) 結合型ウ

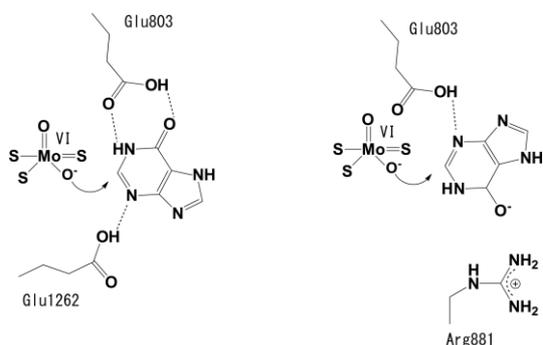


図 2. 基質ヒポキサンチンの結合モードと反応機構

2 個の異なったモデルが提唱されている。

シ酵素を還元状態で観察することで、もう一つの生体内基質であるヒポキサンチンの水酸化機構を解明する (図 2)。現在のところ 2.8Å 分解能でのデー

タ収集が完了しており、今後は結晶化条件、還元の手順などを改良することで、分解能の改善を行う。XOR と酸素分子との反応は補酵素 FAD で行われる。哺乳動物 XOR は FAD 近傍の構造変化を生じ、脱水素酵素活性から酸化酵素活性に変換する。この反応

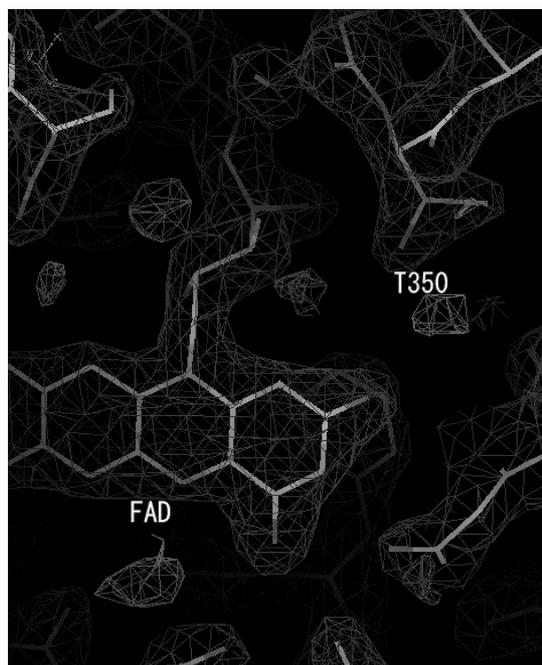


図 3. ラット N350T 変異酵素の結晶構造と 2Fo-Fc map

機構は PF,AR におけるデータ収集の結果判明した。本課題においては FAD 近傍に存在し、生物種間で保存されているラット N350 をトレオニンに変換した酵素を発現し、結晶構造の決定を目指す。現在は 2.1Å 解像度でデータ収集を終えており、精密化を行っている (図 3)。今後は基質 NADH 結合型の構造決定を行う予定である。変異酵素の生化学的解析結果とあわせて FAD 周囲の環境に与える影響と活性酸素生成機構の解明を目指す。

参考文献

- [1] Okamoto K, Kawaguchi Y, Eger BT, Pai EF and Nishino T
J. Am. Chem. Soc. **132** (2010)

* okamoto@nms.ac.jp