

脂肪酸合成初発酵素の結晶構造解析

夏目亮¹、山田稔^{1,2}、中松巨²、川崎寿²、千田俊哉³

¹ JBIC・JBIRC、² 東京電機大院・工・物質工、³ 産総研・BIRC

脂肪酸の生合成経路は、アセチル CoA カルボキシラーゼ (ACC) によるアセチル CoA からマロニル CoA を合成する炭酸固定反応から始まる。本反応は全生物種に共通する生育に必須な反応であるが、ACC の全体構造が不明な事もありその詳細な反応機構は未だ謎のままである。ACC はビオチンカルボキシラーゼ (BC)、ビオチンカルボキシルキャリアープロテイン (BCCP)、およびカルボキシルトランスフェラーゼ (CT) の 3 種の機能ドメイン / サブユニットから構成される。ACC のサブユニット構成は生物種により大きく異なっており、真核生物型 ACC は 3 つの機能ドメインを持つ巨大な単一のサブユニットからなるが、微生物型 ACC では機能ドメインが複数のサブユニットに分かれている。*Corynebacterium glutamicum* では BC ドメインおよび BCCP ドメインからなる AccBC と CT 活性を持つ DtsR1 の 2 種のサブユニットからなる多量体が ACC として機能する。本菌では ACC 活性の変化による代謝フラックスの変化と本菌の高いグルタミン酸生産能に強い相関性があることが示されている。このような ACC の活性調節機構と細胞生理の制御機構の密接な関連に着目し、ACC の構造-機能相関を解明することを目的として、まず *C. glutamicum* ACC の CT サブユニット DtsR1 の X 線結晶構造解析を行った。

大腸菌で発現させた DtsR1 を精製して結晶化を行い、PEG6000 を沈殿剤とした条件下で、空間群 $R32$ 、格子定数 $a=b=203.67\text{\AA}$, $c=233.67\text{\AA}$ の結晶を得た。*Propionibacterium shermanii* 由来のメチルマロニル CoA トランスカルボキシラーゼの 12S サブユニットを初期モデルとした分子置換法により DtsR1 の結晶構造を決定した。非対称単位中には DtsR1 サブユニットが 3 分子含まれており、そのうち 1 分子とその結晶学的対称分子 5 分子で 1 つの六量体が形成され、非対称単位中の残りの 2 分子とその結晶学的対称分子 4 分子で別の六量体が形成されるパッキングをしていた。DtsR1 は 2 回対称性を持つ二量体 3 つが 3 回軸で関係づけられた六量体を形成し、ACC 複合体のコア構造であると考えられた。二量体の fold が微生物のアシル CoA カルボキシラーゼ CT サブユニットや酵母 ACC の CT ドメインと共通であることから、活性中心は二量体の会合部位に存在すること、ACC の活性調節機構には生物種を超えた共通性があることが示唆された。