

ホスファチジルエタノールアミン生合成系酵素 ECT が持つ 2つのドメインの役割分担

大塚 淳、¹小野 裕介、¹福田 良一、永田 宏次、伊東 孝祐、李 愚哲、¹太田 明德、田之倉 優
(東大院・農・応生化、¹東大院・農・応生工)

ホスファチジルエタノールアミン (PE) は、原核・真核を問わず生体膜の重要な構成成分である。真核生物は真核生物特有の生合成系「CDP エタノールアミン経路」を主要経路として PE 生合成をおこなっている。酵素 ECT (CTP:phosphoethanolamine cytidyltransferase) は CDP エタノールアミン経路を制御していると考えられているが、その活性制御機構は明らかになっていない。また、ECT は 2 つのシチジル基転移 (CT) ドメインから構成されることがアミノ酸配列から予想されているが、2 つのドメインがもつ役割は不明である。

ECT と相同な CT ドメインを持つ酵素として CCT と GCT が知られている。CCT では活性ドメインに続く両親媒性ヘリックスが、膜との結合・解離を介して CCT 活性の制御をおこなうというユニークなモデルが提唱されている。GCT は活性ドメインのみを有する構造既知の酵素であるが、C 末端に存在するヘリックスの状態変化によって基質が結合する順番および反応産物が解離する順番が決定されると予想されている。ECT の酵素レベルでの活性制御に関わる報告はこれまでなされていないが、CCT と GCT とのアナロジーから、ECT の活性ドメインに続く C 末端側の領域が活性制御に関わる可能性がある。また、ECT は ordered bi-bi 反応をおこなうことが酵素学的解析によって提唱されており、GCT と似た機構によって基質や産物の結合・解離の順番が決定されると予想されるが、反応機構の詳細は不明であった。

我々は、酵素 ECT の酵素学的性質を立体構造に基づいて明らかにすることを目的とし、酵母 *S. cerevisiae* 由来の ECT の X 線結晶構造解析をおこなった。基質 CTP との複合体構造から、活性部位が N 末端側のドメインのみに存在することが明らかになった。また、反応産物との複合体構造から、ECT の C 末端ヘリックスがヒンジ運動をおこない、反応産物の解離の順番を決定していることが示唆された。また、反応産物の 1 つであるピロリン酸の解離においても必須の役割を果たすことが示唆された。ECT の C 末端側ドメインの役割を示す初めての知見である。

Reference

- Min-Seok, R., Kawamata, Y., Nakamura, H., Ohta, A. & Takagi, M. (1996) *J. Biochem.* **120**, 1040-1047.
- Ohtsuka, J., Nagata, K., Lee, W.C., Ono, Y., Fukuda, R., Ohta, A. & Tanokura, M. (2006) *Acta Cryst.* **F62**, 1003-1005.