

タンパク質結晶構造解析ユーザーグループ

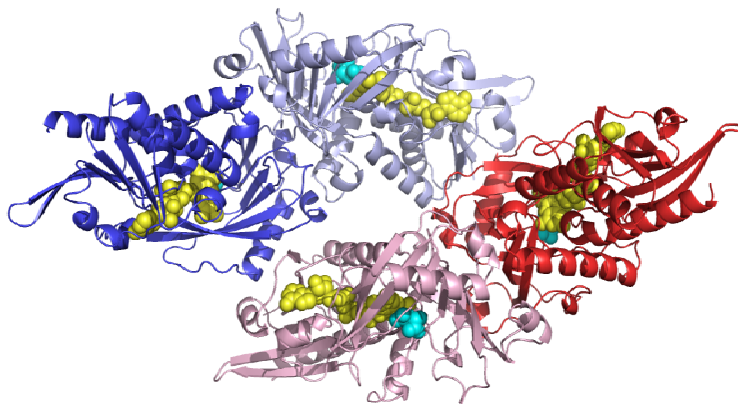
D-アスパラギン酸酸化酵素の X 線結晶構造解析

千田美紀¹、山本篤²、田中裕之²、石田哲夫²、堀池喜八郎²、千田俊哉³

(¹ JBIC・JBIRC, ² 滋賀医大, ³ 産総研・BIRC)

D-アスパラギン酸は、哺乳類の神経内分泌系を構成する脳下垂体や松果体に特異的に高濃度存在し、フラビン依存性酸化酵素である D-アスパラギン酸酸化酵素 (DDO) により分解される。本酵素が欠損すると肥満などの異常が起こるなど、D-アスパラギン酸が神経内分泌系でのホルモンの合成・分泌の制御に重要な役割を担っていることを示す証拠が蓄積されてきている。DDO について行った精密な速度論解析の結果から、酸化型酵素へ基質が結合する通常の触媒サイクルの他に、還元型酵素へ基質が結合するサイクル等があることが示唆され、生体内ではこれらの過程が複雑に絡み合い反応が制御されている可能性があることが見いだされた。我々は、速度論解析と反応中間体の構造解析を組み合わせるにより、生体内で生じていると考えられる DDO の反応制御機構と生理機能の関係を明らかにすることを目的とし研究を進めている。

今回我々は、KEK フォトンファクトリーのビームライン BL-17A, BL-5A, NW12A を利用して酸化型 DDO-阻害剤(meso-tartrate 及び L-tartrate)複合体、還元型 DDO-基質(D-アスパラギン酸)複合体の構造をそれぞれ 1.75Å, 2.10Å, 2.15Å 分解能で決定した。構造解析の結果、DDO の全体構造は同一のサブユニットからなるテトラマーであった。また、反応中間体である還元型 DDO-基質複合体結晶を無酸素チャンバー内で作成し、構造解析を行った結果、各サブユニットの活性部位に基質である D-アスパラギン酸と思われる電子密度が確認できた。酸化型と還元型の構造を比較した結果、FAD のイソアロキサジン環の構造が酸化型ではフラットであったのに対し、還元型では N5 と N10 を中心にわずかに曲がっていることが確認できた。この結果は、我々が構造解析したフェレドキシン還元酵素 BphA4 で酸化還元依存に生じた構造変化と類似している。



DDOの全体構造