

4 量体カルボニル還元酵素におけるペルオキシソーム局在の構造的基盤

田中信忠¹、青木謙一¹、石倉周平²、長野真²、今村順茂³、原明²、中村和郎¹
¹昭和大・薬、²岐阜薬大、³熊本大・薬

[はじめに]

Peroxisomal Carbonyl Reductase (PerCR) は、短鎖型脱水素酵素/還元酵素 (SDR) ファミリーに属し、NADPH を補酵素として基質のカルボニル化合物 (Isatin, Retinal 等) を還元し 2 級アルコールにする酵素である。本酵素は、サブユニットあたり 260 残基からなるペルオキシソーム局在型 4 量体タンパク質 (約 115 kDa) である。細胞質で合成されたタンパク質がペルオキシソームに移行するためには、シグナル配列 (Peroxisome Targeting Signal, PTS) が必要であり、広く知られているシグナル配列として PTS1 及び PTS2 がある。PTS1 は、タンパク質の C 末端に Ser-Lys-Leu (本酵素の場合、Ser-Arg-Leu) として存在し、このシグナルを Pex5p (Peroxin5) が認識し、ペルオキシソームへ輸送する。興味深いことに、細胞内で発現させた PerCR はペルオキシソームへ輸送されるが、外部で発現させてから細胞内に導入した PerCR は、ペルオキシソームへ輸送されないことが明らかとなった。我々はブタ由来 PerCR の立体構造を決定し、同酵素のペルオキシソーム局在の構造的基盤を明らかにした。

[結果と考察]

補酵素 NADPH 存在下で PerCR の結晶化を行った。得られた結晶の大きさは、 $0.1 \times 0.1 \times 0.5 \text{mm}^3$ であった。PF-AR NW12A において 1.5 \AA 分解能の回析強度データが得られた。結晶学的パラメータは、空間群 $P4_2$ 、格子定数 $a = b = 109.1 \text{ \AA}$, $c = 94.5 \text{ \AA}$ であった。SDR ファミリーに属するマウス肺カルボニル還元酵素 (PDB ID: 1CYD [1]、相同性は約 27%) をサーチモデルとし、分子置換法による位相決定・構造精密化を行った ($R = 0.161$, $R_{\text{free}} = 0.188$, 1.5 \AA resolution)。その結果、PerCR の C 末端の Ser-Arg-Leu はサブユニットの会合に関与し分子内部に埋もれており、4 量体の状態 (右図) では Pex5p に認識されないことが明らかとなった。従って、PerCR は細胞質中において単量体として Pex5p に認識されることによりペルオキシソームへ輸送され、ペルオキシソーム内において 4 量体を形成するという作業仮説が導かれる [2]。



[1] Tanaka, N. *et al.*, Hara, A., and Mitsui, Y. (1996). *Structure* **4**, 33-45.

[2] Tanaka, N. *et al.*, Hara, A., and Nakamura, K.T. (2008). *Structure*, in press.