

「タンパク質結晶構造解析」

ヘテロダイマー型プレニル鎖伸長酵素の結晶構造解析

○佐々木大輔¹, 藤橋雅宏¹, 奥山直美¹, 野池基義², 古山種俊², 三木邦夫¹
¹京大・院理, ²東北大・多元研

自然界には炭素 5 個の「イソプレン」を基本骨格とするイソプレノイド化合物が 23,000 種以上存在する。例えば、ホルモン、膜脂質、ビタミン、ヘムなどは、生体組織の構成成分や生物の様々な生理現象に関わる生理活性物質として、非常に重要な役割を果たしている。このようなイソプレノイド化合物全ての前駆体は直鎖プレニル二リン酸である。プレニル鎖伸長酵素は、様々な鎖長をもつ直鎖プレニル二リン酸の合成を担う酵素群である。この酵素群は、生成物にできる二重結合の幾何異性によって、*cis*-および *trans*-プレニル鎖伸長酵素に分類できる。*cis*-プレニル鎖伸長酵素にはホモダイマー型のものが、*trans*-プレニル鎖伸長酵素にはホモダイマー型に加えてヘテロダイマー型のものが知られている。

ヘテロダイマー型 *trans*-プレニル鎖伸長酵素 HexPPs は、通常、その異なる二つのサブユニットが解離状態で存在する。しかし、マグネシウムなどの 2 価カチオンと開始基質であるファルネシル二リン酸 (FPP, C₁₅) が存在すると、両サブユニットが結合する。また、FPP にイソペンテニル二リン酸 (IPP, C₅) を連続 3 回縮合させ、ヘキサプレニル二リン酸 (HexPP, C₃₀) を合成した後、両サブユニットは再び解離状態に戻る。このようなサブユニット間の結合と解離を伴う反応制御機構は、ホモダイマー型の酵素には見出されていない。そこで、その反応制御機構を分子レベルで解明することを目的として、*Micrococcus luteus* B-P 26 由来 HexPPs の結晶構造を決定した。

これまでに、HexPPs の異なる二つのサブユニットの共発現系を構築し、高純度に精製した試料から結晶を得た。この結晶を用いて 2.4 Å 分解能の回折データを収集し、重原子同型置換法による位相決定に成功して初期モデルを構築、この構造の精密化を終了した (分解能: 2.4 Å, R_{work} : 24.2%, R_{free} : 27.5%)。

プレニル鎖伸長酵素には、その生成物の鎖長を厳密に制御している疎水性クレフトが存在している。既に構造が解析されている種々のホモダイマー型 *trans*-プレニル鎖伸長酵素には、二つのサブユニットそれぞれの中央にこのようなクレフトが存在している。それに対して、ヘテロダイマー型の酵素である HexPPs には、異なる二つのサブユニットの界面にクレフトが存在し、両サブユニットが結合してはじめてクレフトが形成されることが示唆され、このことがサブユニット間の結合と解離に関与していると考えられる。