

タンパク質結晶構造解析ユーザーグループ

好熱菌由来酵素 Dxr の立体構造と機能解析

○ 遠藤究・飯野大輔・佐々木康幸・大澤貫寿・矢嶋俊介  
(東京農業大学・応用生物科学部・バイオサイエンス学科)

[目的] Isopentenyl diphosphate (IPP)はイソプレノイドの前駆体となる生体内で必須の化合物である。イソプレノイドはテルペノイド、ステロイド、カロテノイドなどの総称で、ホルモン、コレステロール、カロテンなどが含まれる。

自然界には 2 種の IPP 生合成経路が存在する。多くの真正細菌、高等植物の色素体、マラリア原虫は 2-C-methyl-D-erythritol 4-phosphate (MEP)経路により IPP を生合成している。一方、哺乳類は MEP 経路をもたず、メバロン酸経路に依存して IPP を生合成している。そのため、MEP 経路の阻害剤はヒトに無害な抗菌剤、除草剤、抗マラリア薬となる可能性を秘めている。

本研究では MEP 経路の 2 番目の反応を触媒する酵素 Dxr に注目した。Dxr は 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate (DXP)を基質とし、NADPH と 2 価の金属イオン ( $Mg^{2+}$ 、 $Co^{2+}$ 、 $Mn^{2+}$ )を補酵素とし MEP への反応を触媒する。

本研究では *Geobacillus stearothermophilus* 由来の Dxr (GsDxr)の X 線結晶構造解析を行い、得られた結晶構造と既知の Dxr の結晶構造と比較し、ドラッグデザインを行うための知見や異種間の性質の違いを解明することを目的とした。

[結果] 補酵素である  $Mg^{2+}$ 、NADPH を用いて GsDxr を共結晶化し、分解能 1.9 Å までのデータを得た。GsDxr と *Escherichia coli*、*Mycobacterium tuberculosis*、*Zymomonas mobilis* の Dxr (Protein Data Bank ID; 2EGH、2JCZ、1R0L)と構造の比較を行った。その結果、活性部位や基質結合部位に大きな違いは見られなかったが、酵素活性測定と変性実験の結果からその熱安定性に差が見られた。*G. stearothermophilus* の最適生育温度は 60~65°C と *E. coli*、*M. tuberculosis*、*Z. mobilis* よりも 20 °C 程度高いため、それを反映して Gs-Dxr の耐熱性が高いということが示唆された。また、その構造上の要因の一つとして塩橋の数の違いが考えられた。