

# ゼブラフィッシュ孵化酵素の構造・機能解析

岡田晃季<sup>1</sup>、永田宏次<sup>1</sup>、佐野香織<sup>2</sup>、安増茂樹<sup>3</sup>、窪田恵子<sup>1</sup>、大塚淳<sup>1</sup>、井内一郎<sup>3</sup>、田之倉優<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東大・院農生科・応生化 <sup>2</sup>上智大・理工・生物科学 <sup>3</sup>上智大・理工・物質生命

魚類の孵化においては孵化酵素と呼ばれる亜鉛プロテアーゼが卵膜の分解に必須である。孵化酵素の活性制御や産業利用が、有害魚や養殖魚の生育制御につながると期待される。しかし孵化酵素の基質特異性を決定するメカニズムは未だ解明されていない。本研究では、ゼブラフィッシュの孵化において卵膜を分解する孵化酵素 **zebrafish hatching enzyme 1 (ZHE1; 21 kDa)** の結晶構造解析を行い、その基質認識機構を解明することを目的とした。

PF-BL5A で取得した回折データを基に ZHE1 の結晶構造を 1.14 Å 分解能で決定した(図1)。ZHE1 の中央部には基質認識に関与する長いクレフトが存在していた。この ZHE1 のクレフトをアミノ酸配列類似の亜鉛依存性プロテアーゼである **astacin** (相同性 43%, PDB: 1AST) や **BMP1** (相同性 39%, PDB: 3EDG) の基質認識クレフトと比較したところ、クレフト表面の形状と静電ポテンシャルが異なっていた。これらの差異が ZHE1 と他の類似酵素間に基質特異性の違いをもたらす要因であると示唆された。ZHE1 の基質結合様式を明らかにするため、**astacin** と遷移状態アナログ阻害剤(5 残基)との複合体の立体構造(PDB: 1QJI)に基づいて、ZHE1 と基質ペプチド(5 残基)複合体のモデルを構築した。この基質複合体モデルから、ZHE1 の基質認識に関与する残基を推定した。

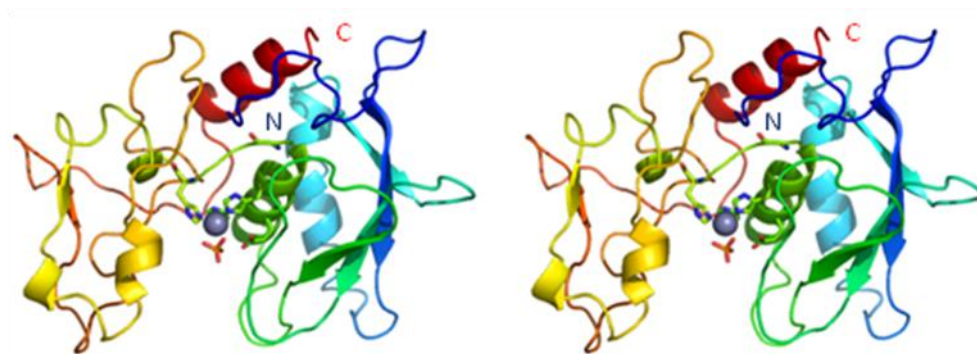


図 1. ZHE1 全体構造のステレオ図。保存されている側鎖(H<sup>99</sup>E<sup>100</sup>xxH<sup>103</sup>xxG<sup>106</sup>xxH<sup>109</sup>)、硫酸イオンをスティックモデルで、亜鉛原子を灰色の球で表示した。