

ホスファチジルエタノールアミン合成系酵素 ECT の

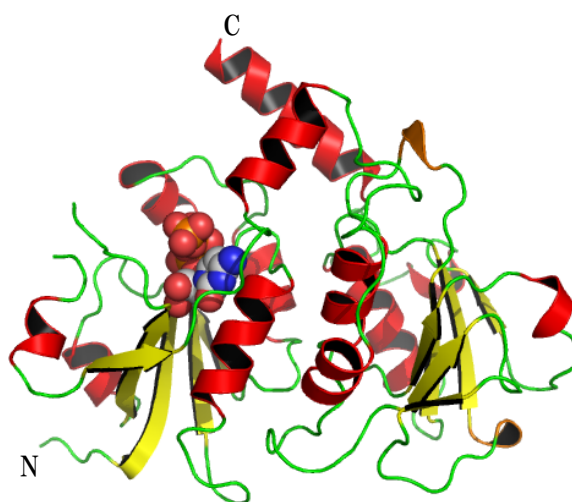
触媒メカニズムの構造解析

○大塚 淳、¹小野 裕介、永田 宏次、¹福田 良一、
伊東 孝祐、李 愚哲、¹太田 明德、田之倉 優
(東大院・農生科・応生化、¹東大院・農生科・応生工)

ホスファチジルエタノールアミン (PE) は生体膜の重要な構成成分である。酵素 ECT (CTP:phosphoethanolamine cytidylyltransferase) は真核生物特有の PE 合成系である CDP エタノールアミン経路を制御する鍵酵素と考えられているが、その活性制御機構は不明であった。また ECT は 2 つのシチジル基転移ドメインから構成されるとアミノ酸配列から予想されたが各ドメインの役割は不明であった。我々は、ECT の各ドメインの役割や活性調節機構を明らかにするため、酵母 *Saccharomyces cerevisiae* 由来 ECT の X 線結晶構造解析をおこなった。

大腸菌を宿主とする大量発現系を用いて ECT を発現・精製・結晶化し、基質や反応産物との複合体構造を 3 つの条件で決定した。

これらの結晶構造より、①ECT の ordered bi bi 反応機構の詳細を可視化することに成功した。②ECT の 2 つの CT ドメインのうち N 末端側 CT ドメインにのみ触媒部位が存在することを示した。③C 末端側 CT ドメインのうち C 末端 α ヘリックスのみが反応に関わる可能性が示唆された。④反応中間体 (反応産物複合体) の構造をとらえることに成功し、シチジル基の転移反応における Mg^{2+} の役割を明らかにした。



ECT 全体構造