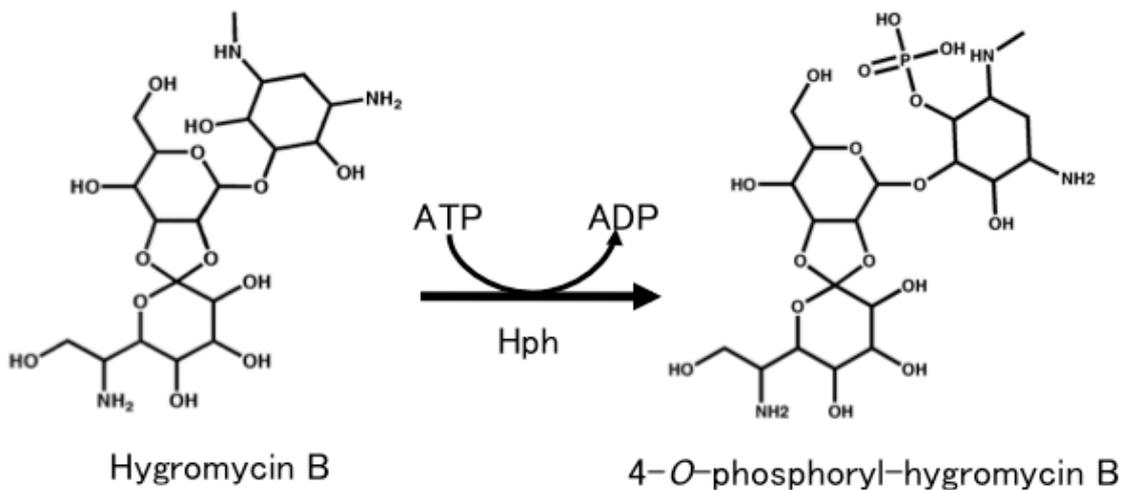


Escherichia coli 由来 Hygromycin B phosphotransferase 変異体の構造活性相関

○深野 和紘¹、飯野 大輔¹、佐々木 康幸¹、星野 貴行²、大澤 貴寿¹、
中村 颯²、矢嶋 俊介¹

(¹ 東京農業大学応用生物科学部、² 筑波大学生命環境科学研究科)

Hygromycin B phosphotransferase (Hph) は、アミノグリコシド系抗生物質であるハイグロマイシンに ATP のリン酸基を転位する反応を触媒するキナーゼである。Hph は、ハイグロマイシン B 特異的に耐性をもたらすことから、その遺伝子 *hph* は薬剤耐性マーカーとして広く用いられている。我々は Hph の基質認識と触媒機構の解明を目指しており、既に Hph およびその耐熱変異体 Hph5 の X 線結晶構造を発表した。現在、Hph に存在するキナーゼの触媒モチーフ配列「HxDxxxxN」に着目して、モチーフ内の残基について解析を行っている。



触媒モチーフの保存残基 (H196、D198、N203) をそれぞれアラニン置換した Hph5 を作成し、酵素活性の測定を行ったところ、H196A にのみ明らかな活性の残存がみられた。そこで H196 の役割を構造から明らかにするため、H196A の X 線結晶構造解析を試みた。その結果、H196 が活性部位で作っていた水素結合による架橋を、モチーフ内の別の残基が代替している様子が観察できた。また H196A は熱感受性が高く構造が不安定であることが確かめられた。これらの結果から、H196 がつくる水素結合が構造の保持に重要であることが示唆された。