

## 高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 由来 ホモセリン脱水素酵素の結晶構造解析

森まり萌<sup>1</sup>、近江理恵<sup>1,2</sup>、神谷信夫<sup>1,2</sup>、○宮原郁子<sup>1,2</sup>  
(<sup>1</sup>大阪市大・院理、<sup>2</sup>理研・播磨)

ホモセリン脱水素酵素(ThrA)は、L-ホモセリンと NAD(P)<sup>+</sup>から L-アスパラギン酸-4-セミアルデヒドと NAD(P)H を生成する反応を触媒する酵素である。高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 由来 ThrA (tThrA)は 331 残基からなる酵素である。今回、MIR 法によって位相を決定し、結晶化条件の異なる 2 種類の Native 結晶と基質アナログ複合体結晶の3つの構造解析を行った。Native 結晶の空間群は *C*222、分解能は 1.4 Å で構造精密化を行った結果、*R* 因子、*R*<sub>free</sub> はそれぞれ 22.0%、24.1%となった。非対称単位中に含まれる2つのダイマー構造は、ダイマー間、サブユニット間で構造の大きな違いはなかった。すでに構造解析がなされている酵母由来の ThrA とは 25%の相同性を持つが分子置換法では解が得られなかった。酵母と好熱菌の ThrA の全体構造を比較してみると、構造のモチーフは非常によく似ているが、酵母では  $\alpha$  ヘリックスの部分が好熱菌ではループ構造をとっているなどの違いが見られた。tThrA のサブユニットは N末端側の Met1 - His120 と Gly291 - Ala309 で構成される Rossmann fold を持つヌクレオチド結合ドメイン、Glu121 - Ser140 と Asp261 - Pro287 で構成されもう一方のサブユニットの同じ部分と  $\beta$  シート構造をつくる二量体化ドメイン、ホモセリンキナーゼ特有のモチーフをもつ Glu141 - Gln260 で構成される基質結合ドメイン、C 末端の Ala309 - Val331 で構成される flexible tail となる。二量体化ドメインとヌクレオチド結合ドメインの間のループ構造には結晶化溶媒に含まれるマグネシウムイオンが結合していた。



図 1. tThrAの二量体構造

tThrA の基質結合様式と反応機構を明らかにする為に、ホモセリンとNADアナログの複合体結晶を共結晶化によって作成した。この結晶の空間群は *P*<sub>3</sub><sub>2</sub><sub>1</sub>、分解能 2.4 Å までの回折データを収集することができた。ThrA の Native 構造をモデル分子とし、分子置換法により位相決定を行った。電子密度マップよりホモセリンのモデルを置くことができたが、NAD アナログについては電子密度が不明瞭であった。