

S-アデノシルホモシステイン加水分解酵素の反応機構

石原正章¹、田中信忠¹、日下部吉男¹、中西雅之²、北出幸夫³、中村和郎¹
¹昭和大・薬、²松山大・薬、³岐阜大・工

【目的】S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase (SAHH) は、生体内に必須のメチル化反応の副産物として生じる S-adenosyl-L-homocysteine (SAH) を L-homocysteine (Hcy) と Adenosine (Ado) に加水分解する酵素である。SAHH 阻害剤は、生体内メチル化を阻害する。従って、SAHH 阻害剤はウイルスや感染症に対する治療剤として期待されている。

病原生物由来 SAHH に関しては高分解能で立体構造解析が行われているが、ヒトやラット等の哺乳類由来 SAHH においては高分解能で立体構造解析が行われていない。

本研究では、SAHH の反応機構を解明するため、マウス由来 SAHH (MmSAHH) と基質(反応生成物)及び数種類の阻害剤との複合体の立体構造を高分解能で明らかにし、活性部位における酵素と基質(反応生成物)あるいは阻害剤との相互作用を原子レベルで明らかにした。

【方法】His タグ融合 MmSAHH を 2 段階のクロマトグラフィーにより精製した。MmSAHH を 0.24mM まで濃縮し、各種阻害剤 4.0mM を加え、これを結晶化サンプルとして結晶化条件の探索を行った。阻害剤として Ado、アリストロマイシン(Ari)、ノルアリストロマイシン(NAM)の存在下で MmSAHH の結晶化が得られた(1)。これらの結晶を用い、高エネルギー加速器研究機構において X 線回折実験を行った。Ado、Ari、NAM 結合型 MmSAHH に関し、それぞれ 1.55、1.55、1.65 Å という高分解能の回折強度データを得ることが出来た。ヒト由来 SAHH をモデルとして用いた分子置換法による位相決定を行い、構造精密化を行った。

【結果および考察】Ado、Ari、NAM 結合型 MmSAHH の結晶構造を高分解能で明らかにすることにより、加水分解反応後半に関し新たな知見が得られた。具体的には、(i) NAM 結合型 MmSAHH の構造解析により反応に必須の水分子の存在、(ii) Ari 結合型 MmSAHH の構造解析により反応後半部分における 3'-ketoヌクレオシドの存在を明らかにすることができた。また、MmSAHH の反応機構において His55、Asp131、Glu156、Lys186、Asp190 は重要な役割をしていることを確認できた。

(1) Ishihara, M. *et al.*, *Acta Crystallogr. F*, in press (2010).