

D-セリンデヒドラターゼの X 線結晶構造解析

Crystal structure of a D-Serine dehydratase from chicken kidney

千田美紀¹、田中裕之²、Venugopalan Nagarajan³、石田哲夫²、堀池喜八郎²、千田俊哉¹

(1 バイオ産業情報化コンソーシアム、2 滋賀医大、3 APS、4 産総研)

D-セリンデヒドラターゼ(DSD)は、ピリドキサル5'-リン酸(PLP)を補酵素とするPLP酵素であり、D-セリンをピルビン酸とアンモニアに分解する脱水反応を触媒することが知られている。この反応では、最初にD-セリンがPLPとシッフ塩基を形成してアルジミン中間体になり、次に α プロトンが引き抜かれ、引き続き側鎖のOH基が脱離することでイミノ酸が生成される。デヒドラターゼ反応は α プロトンが引き抜かれる段階まではラセマーゼの反応と類似している。しかし、ラセマーゼでは α プロトンの引き抜きの後、その逆側からプロトンが再付加されるのに対し、デヒドラターゼではOH基が脱離するという点で大きく異なっている。ニワトリの腎臓のDSDが細菌のアラニンラセマーゼと同じ立体構造ファミリーに属する(fold-type III)ことは一次構造の比較から推測されているものの、大腸菌のDSD(dsdA、fold-type II)を含めDSDの立体構造が明らかにされた例はなく、その反応の違いがなぜ生じるのかは謎であった。我々のグループではこの反応機構の違いを立体構造に基づいて明らかにするために、ニワトリの腎臓から精製したD-セリンデヒドラターゼのX線結晶構造解析を行った。精製タンパク質を用いて結晶化条件の探索を行った結果、約100ミクロンの大きさの結晶を得ることができた。基質フリー、阻害剤の2,3-DAP結合型結晶についてPF(BL-5A, BL-17A, NW12A, NE3A)及びAPSでデータ収集を行い、それぞれ1.9 Å、2.1 Å分解能で構造精密化を行った。その結果、chDSDの構造は2つの同一のサブユニットが2回軸で関連づけられるホモダイマーであり、活性中心はダイマーのインターフェースに位置していた。活性中心にはPLPとZnイオンが存在し、PLPとLys53が典型的なシッフ塩基を形成していることが明らかになった。また、Znイオンを抜いたApo型サンプルを用いて作成したD-セリン結合型結晶についても構造決定を行った。Zn結合型の構造と重ね合わせて比較を行った結果、D-セリンの β -OH基がZnイオンと相互作用できる向きにあることが確認できたため、活性中心のZnイオンが β -OH基の脱離を促進する役割を果たしていると考えられる。