

ウシキサンチン酸化還元酵素と天然基質キサンチンとの 反応中間体結晶構造

Reaction Intermediate Structure of Bovine XOR Bound with Xanthine.

岡本研、松村智裕、草野輝男、松本浩二

日本医科大学 生化学・分子生物学講座(代謝・栄養学)

キサンチン酸化還元酵素(XOR)はプリン分解系におけるヒポキサンチンからキサンチン、キサンチンから尿酸への水酸化を触媒する酵素である。その基質特異性は低く、多くのヘテロ環化合物の窒素原子に隣接する部位を水酸化する。我々は人口の *slow substrate* との反応中間体の結晶構造を明らかにすることで反応機構を解明したが、さらに部位特異的変異法による解析、基質、生成物複合体の結晶構造から天然基質であるヒポキサンチン、キサンチンの結合モードと周囲アミノ酸による基質活性化機構についてもモデルを提唱した。モリブドプテリン欠損型ラット XOR と生成物尿酸の複合体構造において 8-OHの酸素原子がモリブデンの位置近くに存在し、2-OH は Arg880 と水素結合しうる位置にあった。この結合様式は、部位特異的変異法の解析結果と一致しており、酵素反応における結合様式をあらわすと考えられた。このモデルは他グループが行った QM/MM によるシミュレーションでも妥当性が確認されたが、異なったモデルを提唱するグループがあり、議論が分かれていた。

今回我々はウシ XOR と尿酸との複合体結晶を NADH、クエン酸チタンで還元した状態での結晶構造を解析した。結晶構造において尿酸の 8 位の酸素原子を介してモリブデンと結合しており、我々が以前に決定した人工基質 FYX-051 との複合体結晶で得られた反応中間体構造と類似していた。すなわち、逆反応として尿酸が還元状態のモリブデンと結合し、キサンチンの 8 位が水酸化される状態の中間体として捕捉されたと考えられる。この構造において O2 は Arg880 に、O6 は Glu802 と水素結合をしており、我々が予想した結合様式とよく一致した。この構造は QM/MM から提唱された反応機構モデルともよく一致した。非活性型酵素である desulfo XOR (モリブデンに配位している硫黄原子の一つが酸素原子に置換されている) とキサンチン、ヒポキサンチンの複合体結晶構造もあわせて XOR の水酸化反応機構を検討する。

また共同発表者らの課題成果もあわせて発表する。

記入例

UG名は記入不要。こちらで入れます。

BL-0A

放射光

Synchrotron Radiation

表題は必ず英語表記も記入

筑波太郎¹、筑波次郎²

1 KEK-放射光、2 KEK-放射光 II

本文(14ポイント)