

高度好熱菌由来セリンヒドロキシメチル基転移酵素の X線構造解析

X-ray Analysis of Serine Hydroxymethyltransferase from *Thermus thermophilus* HB8

宮原郁子^{1,2}, 湯川直樹¹, 後藤勝³, 生城浩子⁴, 林秀行⁴, 神谷信夫^{1,2}

¹大阪市大・院理, ²理研・播磨, ³東邦大・理, ⁴大阪医大・生化学

セリンヒドロキシメチル基転移酵素(SHMT)は、L-セリンとテトラヒドロ葉酸をグリシンと 5,10-メチレンテトラヒドロ葉酸に可逆的に変換する反応を触媒する。SHMT はこの生体反応に加え、アミノ酸を基質としてアルドール開裂、脱炭酸、ラセミ化、アミノ基転移反応も触媒することが報告されている。今回、高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 由来 SHMT(tSHMT)をターゲットとし、大量培養、精製、結晶化、回折実験を行い、1.2 Å という高分解能での回折データ収集に成功した。すでに構造が得られている *Bacillus Stearothermophilus* 由来の SHMT(bsSHMT)をサーチ分子として分子置換法により位相決定を行った。非対称単位内にダイマーが1つ存在し、各サブユニットのN末端側の5残基を除いてモデルを構築することができた。

tSHMT は fold type I であり、活性中心は大小2つのドメインの境界、かつサブユニット境界領域に存在している。補酵素 PLP はループに存在する Lys226 とシッフ塩基を形成していた。また、PLP のピリジン環の窒素原子は Asp197 の側鎖と、O3 の酸素原子は Ser172 と His200 と水素結合を形成していた。このような PLP と直接相互作用するアミノ酸残基はすべての SHMT において保存されている。また、PLP のピリジン環はタンパク質側から Ala199 が、溶媒側からは His122 が相互作用することによって固定されている。活性中心には結晶化溶媒に用いた硫酸イオンが存在しており、この位置にアミノ酸が結合すると予測される。bsSHMT と tSHMT の C α 炭素を最小二乗法により重ね合わせを行うと r.m.s.d. は 1.05 Å となり、非常によく似た構造であることが分かった。しかし、構造を重ね合わせて比較すると tSHMT が bsSHMT よりもやや開いた open 構造になっていた。