

# シクロセリン鏡像異性体による type II システイン脱硫酵素 SufS の阻害機構 Cycloserine enantiomers exhibit different inhibition mechanisms for type II cysteine desulfurase SufS

藤城貴史\*

埼玉大学大学院理工学研究科生命科学部門分子生物学領域

〒338-8570 埼玉県さいたま市桜区下大久保 2 5 5

Takashi FUJISHIRO

Department of Biochemistry and Molecular Biology,

Graduate School of Science and Engineering,

Saitama University

255 Shimo-okubo, Sakura-ku, Saitama, 338-8570, Japan

## 1 はじめに

システイン脱硫酵素は、ピリドキサル-5'-リン酸 (PLP) を補因子として活性部位に持ち、基質 L-システインの脱硫反応を触媒する酵素である。現在までに数種類のシステイン脱硫酵素が知られているが、最も研究が進められてきたものとして、3種の鉄硫黄クラスター生合成 NIF、ISC、SUF がそれぞれ持つ NifS、IscS、SufS があげられる。これら3つの酵素は、アミノ酸一次配列、および活性部位周りの立体構造の比較により、さらに2つの Type に分類されることが知られ、NifS、IscS は Type I、SufS は Type II である[1]。これまでに反応中間体の X 線結晶構造解析から、異なる Type 間で、システイン脱硫酵素の触媒機構のうちの硫黄引き抜き時の触媒ループの動きが違ってくることを示されてきた[2]。この事実は、システイン脱硫酵素は、同じ機能ながらも両 Type 間を見分けたドラッグターゲットとなりうることを示唆するものであった。並行して、インドの別の研究グループにより、マラリア原虫が、D-シクロセリンによって生育阻害を受けること、また、そのターゲットとなるのはアピコプラスト中の SufS であることが示されていた[3]。ヒトは Type II の SufS を持たず、代わりに Type I の IscS を利用することから、新規抗マラリア薬剤開発においては、Type II SufS のみをターゲットとする化合物探索が望まれる。そのためには、Type の異なるシステイン脱硫酵素と阻害剤の反応の理解が必要となり、今回そのモデルケースとして D-シクロセリンとその鏡像異性体 L-シクロセリンを用いた SufS、NifS の阻害状態の構造について、X 線結晶構造解析により調べた。

## 2 実験

SufS、NifS は既報の条件[1]で、それぞれ結晶化を行なった。結晶に対し、D-シクロセリン、または L-シクロセリンを様々な時間ソーキングしたのち、結晶母液から結晶をすくい上げて液体窒素で急速凍結することで、阻害反応中間体型の結晶を作成した。活性部位における脱硫反応に必須の残基を Ala に置

換した変異型 SufS についても同様のソーキング実験を行なった。X 線結晶回折データを収集し、Molrep による分子置換、Refmac5 と Coot による構造モデリングと精密化を実施した。最終段階では TLS refinement も行なった。構造評価は Molprobit を用いた。

## 3 結果および考察

Type II SufS の場合、D-シクロセリンによる阻害では、ピリドキサミン-5'-リン酸(PMP)が阻害反応生成物として得られ、L-シクロセリンによる阻害では、PLP-isoxazole 付加体が阻害反応生成物として得られた。一方、Type I NifS の場合は、D-シクロセリン、L-シクロセリンどちらの場合でも、PLP-isoxazole 付加体が阻害反応生成物として得られた。両者の違いを考察するため、変異型 SufS 変異型のいくつかと D-、L-シクロセリンとの反応を実施した結果、SufS H121A 変異型と D-シクロセリンとの反応において、PLP-isoxazole 付加体が観測され、PMP の形成は、PLP-isoxazole 付加体を經由して起こることが示された。これらの構造解析の結果と、別の反応速度論的解析および有機機器分析の結果を統合することで、最終的に SufS、NifS と D-シクロセリン、または L-シクロセリンそれぞれの阻害反応機構について提唱することができた[4]。

## 謝辞

結晶データ測定においては、PF ビームラインスタッフの方々に大変感謝申し上げます。

## 参考文献

- [1] T. Fujishiro, *et al.*, *Biophys. Physicobiol.* 19, e190001, (2022).
- [2] R. Nakamura, *et al.*, *FEBS J.*, 287, 1138-1154, (2020).
- [3] M. Charan, *et al.*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 58, 3389-3398, (2021).
- [4] R. Nakamura, *et al.* *FEBS J.* 289, 5947-5970, (2022).

\* [tfujishiro@mail.saitama-u.ac.jp](mailto:tfujishiro@mail.saitama-u.ac.jp)