

提出日：平成 28 年 5 月 20 日

平成 27 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

## (2) 研究成果の概要

|  |                           |                  |  |
|--|---------------------------|------------------|--|
| 課題名  | スフィンゴ脂質合成を制御する酵素の X 線構造解析 |                  |  |
| 研究代表者  | 氏名                        | 宮原郁子             |  |
|  | 所属機関名・部局名                 | 大阪市立大学・理学研究科     |  |
|  | 職名                        | 准教授              |  |
| 事業名<br>(該当の事業名の右欄に○)   | <input type="radio"/>     | 共同研究員            |  |
|  | <input type="radio"/>     | 国際共同研究課題         |  |
|  | <input type="radio"/>     | 超高磁場NMR 共同利用研究課題 |  |
|  | <input type="radio"/>     | 客員フェロー           |  |
| 蛋白研受入担当教員名   | 栗栖源嗣                      |                  |  |
| <p>アミノレブリン酸合成酵素(ALAS)は、スフィンゴ脂質の生合成経路の初発律速酵素であるセリンパルミトイル基転移酵素(SPT)と同じグループに属する PLP 酵素で、グリシンとスクシニル CoA の縮合によるアミノレブリン酸の合成反応を触媒する。 <i>Caulobacter crescentus</i> 由来 ALAS の変異体のプラスミドを作成し、大腸菌内大量発現系を構築し、組み替えタンパク質の発現・精製をおこない、モスキートを用いてスクリーニングを行ったところ、複数の条件で単結晶が確認できた。これらの条件をさらに詳細に検討したところ、1.35Å分解能でのデータ収集に成功し、分子置換法によりアポ型酵素の構造を得る事が出来た。また、基質の1つであるグリシンを共結晶化したものもアポ型酵素と同条件で得る事が出来、1.77 Å分解能で構造決定を行う事ができた。グリシン複合体結晶構造解析の結果、グリシンは補酵素である PLP とシップ塩基結合を形成することで酵素に結合していた。</p> |                           |                  |  |

※本様式は、“拠点事業成果報告”として、拠点ホームページにて公開させていただく予定です。

※必ず A4 用紙 1 枚におさめて下さい。 ※提出期限：平成 28 年 5 月 20 日（金） ※提出の際は PDF 変換して下さい。

※提出先：大阪大学蛋白質研究所拠点プロジェクト班 E-mail: tanpakuken-kyoten@office.osaka-u.ac.jp