

(様式 1-2)

提出日：2020 年 6 月 3 日

2019 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		Fold type I PLP 酵素における反応機構の解明	
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・大学院理学研究科	
	職名	准教授	
事業名 (該当の事業名の右欄に○)		○	共同研究員
			超高磁場NMR 共同利用研究課題
			クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題
			客員フェロー
蛋白研受入担当教員名		栗栖源嗣	
PLP 酵素の Fold type の中で Type I に属する酵素は最も多く、触媒する反応も基質も多種多様である。多機能補酵素である PLP を結合し、同じ fold を持ちながら、それぞれの酵素が異なる基質特異性、反応特異性を如何にして獲得しているのかを立体構造から明らかにすることが本研究の目的である。 アミノレブリン酸合成酵素(ALAS)は、グリシンとスクシニル CoA よりアミノレブリン酸を合成するヘム生合成における律速段階を触媒する PLP 酵素である。最終生成物のヘムによって、ALAS の活性が阻害されることは古くから知られているが、詳細な機構はあきらかとなっておらず未だ盛んに研究されている。ALAS の反応中間体および不活性型 ALAS の立体構造を明らかにすることにより、この問題は解決できると考えられる。ヒトにおいては、赤芽球細胞で特異的に発現する ALAS-2 の変異が X 連鎖性鉄芽球性貧血の原因となることも知られており、その原因についても構造から情報を与えることが出来ると期待する。 我々は、<i>Caulobacter crescentus</i> 由来アミノレブリン酸合成酵素(cALAS)について、結晶構造解析をおこなってきた。結晶化ロボットによるスクリーニングで得られた条件を改良することにより 1.0Å 分解能に迫る結晶を得ることに成功した。しかしながら、この結晶構造では、結晶化条件に含まれる酢酸が基質結合部位の一部に結合しており、活性部位がやや閉じた構造をしていた。今回、基質が結合していない状態を解析することを目的とし、モスキートを用いた結晶化スクリーニングを行った。複数の条件で結晶が得られたので、さらに結晶化条件を検討した結果、回折実験に適した結晶を得ることが出来た。このデータを用いて、構造解析を行ったところ、得られた構造では、活性部位に基質が結合していないということが分かった。現在、分解能向上に向けて、さらに結晶化条件の改良を行っている。			

