

提出日：2019年 5 月 17 日

平成 30 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○)	<input type="radio"/>	共同研究員	
	<input type="radio"/>	超高磁場NMR 共同利用研究課題	
	<input type="radio"/>	クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題	
	<input type="radio"/>	客員フェロー	
蛋白研受入担当教員名	栗栖源嗣		
<p>セリンパルミトイル基転移酵素 (SPT) は Fold-type I の PLP 酵素であり、L-セリンとパルミトイル-CoA を基質とした脱炭酸を伴う縮合反応によって 3-ケトジヒドロスフィンゴシンを生成する。この反応はスフィンゴ脂質合成経路の律速段階である。また、ヒトにおいては SPT 遺伝子の点変異によって遺伝性感覚ニューロパチー I 型 (HSN1) が発症することが知られている。HSN1 変異型酵素では基質特異性が変化し L-アラニンやグリシン由来の代謝物が合成され、これらの異常代謝物が HSN1 発症に関与すると考えられている。我々は既に <i>Sphingobacterium multivorum</i> SPT (<i>Sm</i>SPT) の結晶構造解析に成功し、L-セリンとの複合体構造を得ている。さらに、<i>Sm</i>SPT とアミノ酸配列の相同性が高い <i>Sphingomonas paucimobilis</i> SPT は野生株であっても本来の基質である L-セリン以外のアミノ酸を基質として代謝することが分かっている。そこで、<i>Sm</i>SPT の基質認識機構を立体化学的に解明することを目的とし、<i>Sm</i>SPT と基質アナログとの複合体構造の獲得を試みた。これまでに得られている結晶化条件では、緩衝液の Tris がアミノ酸基質結合部位に存在しており、K_m の大きいアミノ酸をソーキングしても酵素に結合しないという問題があった。この問題を解決するため、種々の結晶化条件を検討した。結果としては、結晶を作成する時点では Tris を緩衝液として用いるが、得られた結晶を Tricine を緩衝溶液としたに変更した溶液に浸漬することによって、酵素中の PLP と結合している Tris を結晶から取り除くことが出来た。また、さらに結晶化条件を改善することにより、大幅に分解能を向上させることが出来た。この方法を用いて、グリシンやトレオニンをソーキングし、結晶中で酵素の活性部位に結合させることが出来た。</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：令和元年 5 月 17 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