

高度好熱菌由来 HpcC の結晶構造

**Crystal Structure of HpcC protein from *Thermus thermophilus* HB8**

水谷 尚志, 国島 直樹

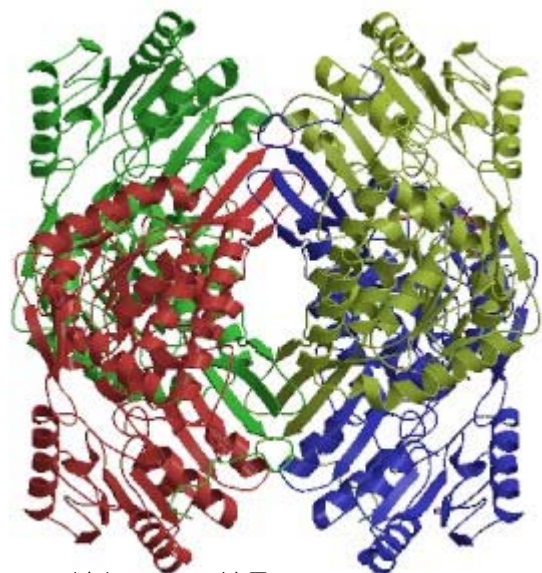
H. Mizutani, N. Kunishima

(理研播磨)

e-mail: [mizu@spring8.or.jp](mailto:mizu@spring8.or.jp)

3, 4-ジヒドロキシフェニル酢酸はバクテリア中で6つの酵素による7段階の反応を経てコハク酸セミアルデヒドとピルビン酸に分解され、TCA サイクルへ流れていく。はじめに HpcB による開環反応で5-カルボキシメチル-2-ヒドロキシムコン酸セミアルデヒドになり、続いて HpcC が5-カルボキシメチル-2-ヒドロキシムコン酸にする。HpcCは補酵素にNAD<sup>+</sup>をもつ、分子量 57, 200、アミノ酸 515 残基の同一サブユニットからなる四量体のアルデヒド脱水素酵素である。今回、高度好熱菌 *thermus thermophilus* HB8 由来HpcCのX線結晶構造解析に成功した。結晶化は全自動タンパク質結晶化観察ロボットTERAで行い、結晶化剤にポリエチレンジイミンを使用することで、回折データ収集に適した板状結晶が得られた。回折実験の結果、得られた結晶は空間群P1で、格子中に四量体が1つ存在していた。SPring-8 BL26B1にて2.1Å分解能までのデータを収集することが出来た。ヒト由来アルデヒド脱水素酵素(42% homology)をモデル構造として分子置換法により位相を決定し、最終的にR=18%, R<sub>free</sub>=21%の構造を得た。

精密化の結果、非対称単位内に存在する4分子のうち2分子にのみNAD<sup>+</sup>の結合が見られた。基質結合部位は深いポケット状になっており、ポケットの底にニコチンアミド環と活性中心のシステイン残基が存在していた。



(左) HpcC の結晶

(上) HpcC の四量体構造