

アミノ基転移酵素 TTHA0173 の構造と基質特異性

Structure and substrate specificity of putative aminotransferase, TTHA0173

松村光義¹, 後藤 勝^{1,2}, 近江理恵¹, 広津 建^{1,2}, 水口博之³, 林 秀行³, 宮原郁子^{1,2}
 Mitsuyoshi Matsumura¹, Masaru Goto^{1,2}, Rie Omi¹, Ken Hirotsu^{1,2}, Mizuguchi Hiroyuki³,
 Hideyuki Hayashi³, Ikuko Miyahara^{1,2}

(¹大阪市大・院理, ²理研・播磨研, ³大阪医大・生化学)

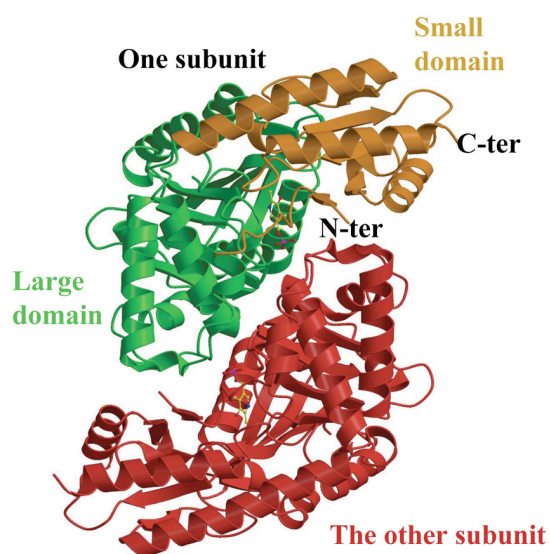
(¹Grad. Sch. Sci., Osaka City Univ., ²RIKEN/Harima Inst., ³Dept of Biochem., Osaka Med. Coll.)

e-mail: miyahara@sci.osaka-cu.ac.jp

ピリドキサル 5'-リン酸(PLP)を補酵素とする酵素群は、基質アミノ酸の C α 炭素のまわりの結合をゆるめることによって、アミノ基転移反、種々の脱離・置換、アルドール開裂、脱炭酸などの多彩な反応を触媒するので、アミノ酸代謝系で重要な役割を担っている。百種類を超える PLP 酵素群は、全体構造の分類に基づいて、fold type I ~ IV に分類される。すなわち、4つの祖先から発散・収斂進化を繰り返して、現在に至ったと考えられている。理由は明らかではないが、fold type I に属する PLP 酵素が圧倒的に多い。

Thermus thermophilus HB8, TTHA0173 は fold type I に属するアミノ基転移酵素である。TTHA0173 の一次構造を用いて、psi-BLAST で検索すると、TTHA0173 はセリン：ピルビン酸アミノ基転移酵素とアラニン：グリオキシル酸アミノ基転移酵素の機能を兼ね備えた 2 機能酵素 (dual-functional enzyme) であると推定された。MAD 法を用いてネイティブ酵素の立体構造を 1.86Å 分解能で決定した (下図)。TTHA0173 に最もよく似た構造を持つタンパク質をプログラム DALI で検索したところ、それはヒトのセリン：ピルビン酸-アラニン：グリオキシル酸 アミノ基転移酵素であった。Z 値は 47.7 と極めて高い値を示し、一次構造も 33% の一致を示した。この段階で、酵素の機能は確定したと考え、基質アナログである 2-メチル-L-セリンと TTHA0173 の複合体を結晶化した。その構造を 2.05Å 分解能で決定し、基質認識機構、反応機構を推測することができた。

最終的に TTHA0173 がセリン：ピルビン酸-アラニン：グリオキシル酸アミノ基転移酵素であることを確認するために、種々のアミノ酸およびそれらのケト酸の kcat と Kd を求めた。確かに予想される基質に対して活性を示したが、意外なことに、L-グルタミン酸やそのケト酸なども基質となることがわかった。総合的に考えると、予想された酵素機能を持つが、TTHA0173 はグルタミン酸：ピルビン酸アミノ基転移酵素(GPT)と命名するのがよりよさそうである。ちなみに肝機能検査の GPT 値とは血液中の GPT の量である。



TTHA0173 の全体構造