

X-ray Crystallography of TTHA0810, a metallo- $\beta$ -lactamase related protein  
from *Thermus thermophilus* HB8*Thermus thermophilus* HB8 由来の金属依存性  $\beta$  ラクタマーゼ TTHA0810  
の X 線結晶構造解析

Jun Ohtsuka<sup>1</sup>, Shoichiro Horita<sup>1</sup>, Takafumi Akino<sup>1</sup>, Akihiro Yamamura<sup>1</sup>, Lirong Chen<sup>2</sup>, Zhi-Jie Liu<sup>2</sup>,  
Mayumi Kanagawa<sup>3</sup>, Akio Ebihara<sup>3</sup>, Bi-Cheng Wang<sup>2</sup>, Koji Nagata<sup>1,3</sup>, and Masaru Tanokura<sup>1,3</sup>  
大塚 淳<sup>1</sup>、堀田 彰一郎<sup>1</sup>、秋野 隆文<sup>1</sup>、山村 昭裕<sup>1</sup>、Lirong Chen<sup>2</sup>、Zhi-Jie Liu<sup>2</sup>、  
金川 真由美<sup>3</sup>、海老原 章郎<sup>3</sup>、Bi-Cheng Wang<sup>2</sup>、永田 宏次<sup>1,3</sup>、田之倉 優<sup>1,3</sup>

(<sup>1</sup>Grad. Sch. of Agric. Life Sci., Univ. of Tokyo, <sup>2</sup>Univ. of Georgia, <sup>3</sup>RIKEN SPring-8 Center, Harima Institute)

(<sup>1</sup>東大院農、<sup>2</sup>ジョージア大、<sup>3</sup>理研播磨)

e-mail: aa67011@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp

metallo- $\beta$ -lactamase superfamily に属するタンパク質は広く分布しており、HXHDXH モチーフを持つものが数多く知られている。HXHDXH モチーフは、配位した 2 個の金属イオンとともに活性中心を形成し、種々の反応を触媒する。このファミリーに属するタンパク質として、 $\beta$ -lactamase、glyoxalase II、*N*-acyl-L-homoserine lactone hydrolase、RNA degradation protein などが知られている。高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 由来の TTHA0810 (TT1348) はアミノ酸配列から metallo- $\beta$ -lactamase であると予想されているが、機能は不明である。そこで我々は、TTHA0810 の機能に関する手がかりを得るために、TTHA0810 の結晶構造解析を行った。

我々は、TTHA0810 の SeMet 置換体結晶から得られた回折データを用い、SAD 法によって結晶構造を決定した。非対称単位中に 2 分子の TTHA0810 が存在し、それぞれに対して 2 個の亜鉛イオンが結合していた。これまでに立体構造が報告されている metallo- $\beta$ -lactamase superfamily に属する複数のタンパク質と比較した結果、TTHA0810 は以下のようなユニークな特徴を 2 つ有していた。1 つは、 $\alpha$  ヘリックスが 4 本連続した領域が C 末端に追加で存在していた (図 1 の赤で示した領域)。この領域の存在により、活性部位の分子表面の形状が他の metallo- $\beta$ -lactamase のものと大きく異なっていた。もう 1 つは、活性部位近傍に存在するヘリックス-ループ-ヘリックスから構成される部分が、推定活性部位の蓋のようにはたらくことが示唆された (図 2)。開構造の場合には推定活性部位を含むくぼみが存在するが、閉構造の場合にはくぼみの出入り口が部分的に覆われるため、基質が入りにくいことが予想された。これらの特徴および、他の metallo- $\beta$ -lactamase との詳細な構造比較により、我々は TTHA0810 が直鎖状の構造を持つ化合物を基質とすることを予想した。



図 1. TTHA0810 全体構造

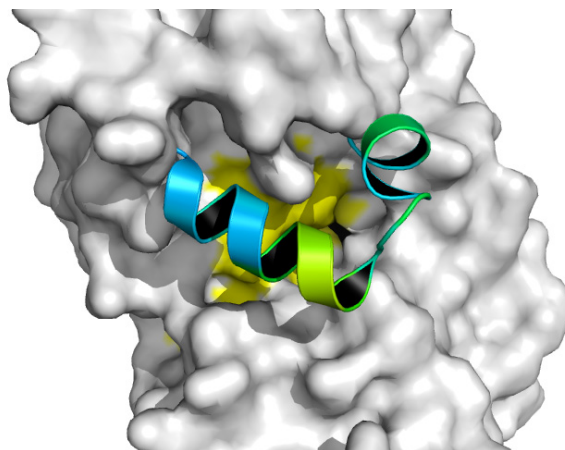


図 2. TTHA0810 閉構造の活性部位