

酵素立体構造からの機能解説

藤城 貴史・嶋 盛吾*

ゲノムシーケンスで見いだされた遺伝子の機能を類推するには、推定タンパク質の一次構造をデータベース上のタンパク質と比較するのが定法である。機能のわかっているタンパク質と相同性が認められれば、とりえず酵素の機能を特定することができる。しかし、相同タンパク質が見つからなかった場合にはどうすれば良いのであろうか。そんなとき役に立つ方法の一つが構造ゲノム学手法である。酵素など機能タンパク質の機能は立体構造によって決まるから、似たような立体構造を持ち、活性部位のアミノ酸残基が保存されている場合、一次構造に相同性が認められなくても、タンパク質は同じ機能を有する可能性がある。構造ゲノム学手法では、未知遺伝子にコードされるタンパク質構造をX線結晶構造解析やNMRを使った方法で決定し、立体構造の類似性からタンパク質の機能を類推する。

構造ゲノム学手法を用いた先駆的な研究として、Kimらによる好熱性メタン生成菌 *Methanocaldococcus jannaschii* の遺伝子解析があげられる¹⁾。MJ0226 遺伝子にコードされるタンパク質の一次構造は機能の知られているタンパク質との相同性が認められなかった。しかしX線結晶構造解析の結果、ATP分解酵素と類似した立体構造を持つことが明らかになり、そのATP分解活性は酵素活性測定で確認された。さらに、タンパク質と基質との共結晶構造からも機能情報を得ることができた。*M. jannaschii* MJ0577 遺伝子にコードされる機能未知のタンパク質は、一次構造だけでなく三次構造でも機能の知られているタンパク質と相同性が認められなかった。ところが、大腸菌から調製する際に紛れ込んだATPが共結晶を形成したため、結晶構造中にATPの存在が確認された。この偶然の発見の結果、新規なATP結合モチーフ構造が明らかになった²⁾。

しかし、純粋に構造ゲノム学手法だけで詳細なタンパク質機能（たとえば基質特異性）を特定することは容易ではない。これまでに、いくつもの構造ゲノム学プロジェクトで多くのタンパク質構造が解明されたが、基質特異性を含む詳細な機能解析がなされた例は少ない。基質を含めたタンパク質の機能情報を得るには、他の解析手法を組み合わせる必要がある³⁾。原核生物の場合、同じ代謝系に属する遺伝子や機能が関連した遺伝子は集合してゲノム中に配列されていることが多い。この性質を利用して、遺伝子の並び方から機能情報を予測することができる。また、トランスクリプトームやプロテオーム解析の結果からも未知タンパク質の機能に関するヒントが得

られる。

Fujishiroらは遺伝子のクラスター形成および立体構造類似性から[Fe]-ヒドロゲナーゼ (Hmd) のコファクター (FeGPコファクター) の生合成タンパク質HcgBの機能を決定することに成功した⁴⁾。この研究では、[Fe]-ヒドロゲナーゼ遺伝子 (*hmd*) 近傍にクラスターを形成する *hcg* 遺伝子 (*hmd*-co-occurring gene) に注目し、構造ゲノム学手法でHcgタンパク質の機能解析を行った。*hcg* 遺伝子はHmdの構造遺伝子とクラスターを形成していることから、Hmdの補欠分子族であるFeGPコファクター (図1) の生合成に関与することが予想されていた。DALIサーバーを用いた立体構造比較の結果、HcgBタンパク質構造は大腸菌やヒトのヌクレオチドトリホスファターゼ (NTPase) と高い類似性を示すことがわかった。FeGPコファクターの構造にはヌクレオチド (GMP) が含まれていることと、HcgBとNTPaseの構造類似性から、HcgBはGTPとピリジノール化合物からグアニリルピリジノールを生成する酵素であることが推定された。ピリジノール化合物とGTPを基質とした酵素反応実験によって酵素反応が証明された。さらに共結晶構造解析により、実際の酵素反応に使われる天然基質の構造も明らかになった。いろいろな解析手法を組み合わせることによって、構造ゲノム学手法が能力を発揮することを示した一例である。

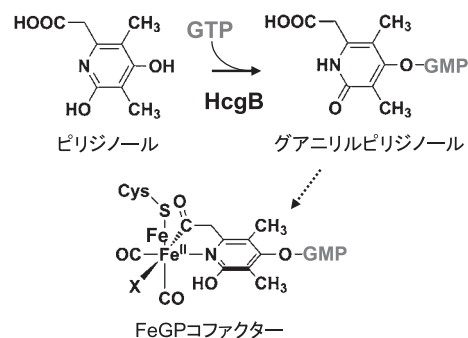


図1. FeGPコファクター生合成におけるHcgBの役割

- 1) Huang, K. Y. *et al.*: *Nat. Struct. Biol.*, **6**, 691 (1999).
- 2) Zarembinski, T. I. *et al.*: *Pros. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**, 15189 (1999).
- 3) Galperin M. Y. and Koonin, E. V.: *Nucleic Acids Res.*, **32**, 5452 (2004).
- 4) Fujishiro T. *et al.*: *Angew. Chem. Int. Ed.*, **52**, 12555 (2013).