

Pseudomonas sp. T62 由来の L-threo-3-hydroxyaspartate dehydratase の 構造・機能解析

生命分子化学講座 微生物生理学分野
村上知子

【背景】 L-threo-3-hydroxyaspartate dehydratase (L-THA DH) (EC 4.3.1.16) は L-threo-3-hydroxyaspartate (L-THA) からアンモニアを脱離させてオキサロ酢酸を生成する反応を触媒する。土壌細菌 *Pseudomonas* sp. T62 から初めて見出された L-THA DH をコードしている遺伝子は未だクローニングされていなかった。

【目的】 *Pseudomonas* sp. T62 由来の L-THA DH をコードしている遺伝子をクローニングすること及び、大腸菌での発現系を構築し、取得した組換え酵素を用いて諸性質を解明することを目的にした。さらに詳細な構造の情報を得るために、分子モデリングも行うことにした。

【方法・結果】 全長 957 bp の ORF を取得した。推定アミノ酸配列を解析した結果、セリン/スレオニンデヒドラターゼファミリーに属していた (図)。系統樹上では *S. cerevisiae* のセリンラセマーゼホモログ、マウスやヒトのセリンラセマーゼなどの近傍に位置していた。組換え酵素を精製して、生化学的な諸性質を解明した。系統樹から、本酵素はラセマーゼ活性を示す可能性が示唆されたが、L-THA DH 活性のみを示し、ラセマーゼ活性は検出限界以下だった。本酵素と 64% のアミノ酸配列の相同性を持つ *Shizosaccharomyces pombe* 由来のセリンラセマーゼの立体構造を元に、分子モデリングを行って三次構造を推定した。三次構造を元に S147P 変異を導入したところ、セリンラセマーゼ活性が検出できた。このことから、本酵素とセリンラセマーゼは、構造・機能の両面で類似していると考えられる。

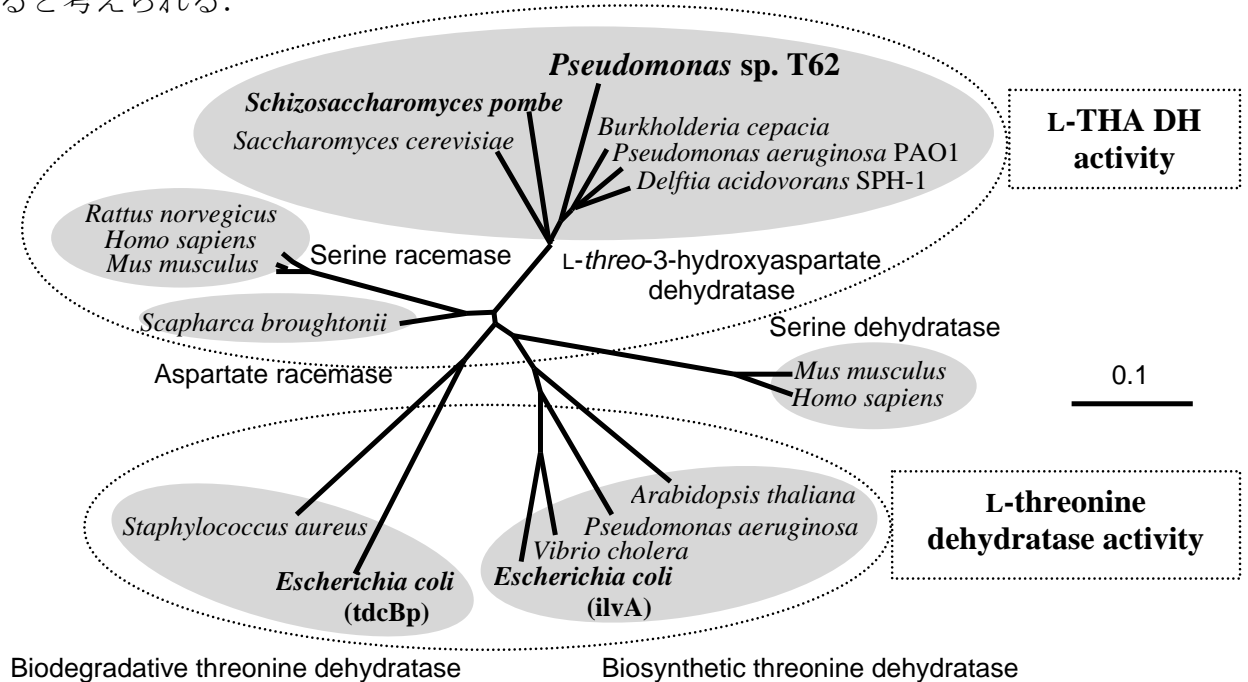


図 セリン/スレオニンデヒドラターゼファミリーの系統樹