

Title	Structure and Function of Long-chain Fatty Acyl-CoA Synthetase from <i>Thermus thermophilus</i> HB8
Author(s)	大石, 裕子
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45655
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	おおいし ゆう こ 大石 (久永) 裕 子
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学位記番号	第 19024 号
学位授与年月日	平成 16 年 9 月 30 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 理学研究科高分子科学専攻
学位論文名	Structure and Function of Long-chain Fatty Acyl-CoA Synthetase from <i>Thermus thermophilus</i> HB8 (超好熱菌由来長鎖脂肪酸アシル CoA 合成酵素の構造と機能)
論文審査委員	(主査) 教授 月原 富武 (副査) 教授 中川 敦史 教授 則末 尚志

論 文 内 容 の 要 旨

長鎖脂肪酸アシル CoA 合成酵素は動植物、細菌等、種を超えて存在し脂肪酸代謝に関与する酵素である。単細胞においては長鎖脂肪酸アシル CoA 合成酵素は、様々な外来性脂肪酸の輸送に関与することがわかっている。また哺乳類においては enzyme activation, protein acylation, cell signaling, transcriptional regulation などの生理的な調節にも関与している。脂肪酸アシル CoA 合成酵素はどのような炭素数をもつ脂肪酸を基質としてとるかによって短鎖脂肪酸アシル CoA 合成酵素、中鎖脂肪酸アシル CoA 合成酵素、長鎖脂肪酸合成酵素の三つに分類される。脂肪酸アシル CoA 合成酵素は次のような二段階反応で脂肪酸アシル CoA の形成を触媒する。

- (1) 脂肪酸 + ATP → 脂肪酸 - AMP + PP_i
- (2) 脂肪酸 - AMP + CoA → 脂肪酸アシル - CoA + AMP

また、脂肪酸アシル CoA 合成酵素は adenylate (AMP) -forming ファミリーの一つとして分類される。この他の adenylate-forming ファミリーとしてその結晶構造が報告されているものに、luciferase、phenylalanine-activating A-domain (PheA)、2,3-dihydroxybenzoate-activation E-domain (DhbE)、acetyl CoA synthetase (ACS) などが存在する。シークエンス相同性は約 20-30% であり、ATP 結合サイトに関わるアミノ酸残基は高く保存されている。

長鎖脂肪酸アシル CoA 合成酵素に関しては配列の相同性や、また変異体を用いた研究から、同じようなメカニズムで adenylate 形成が触媒されると考えられていたが、構造と機能の関係はまだまだはっきりとしておらず、立体構造の解明が待ち望まれていた。また先に述べた adenylate-forming ファミリーとは違い、長鎖脂肪酸といった炭素鎖の長い鎖をもつ基質をどのように酵素が認識しているのかが非常に興味深いところであった。本研究では、ATP 及び脂肪酸結合部位、また反応機構の解明を目的とし、超好熱菌 (*Thermus thermophilus* HB8) 由来長鎖脂肪酸アシル CoA 合成酵素を用い、アポ型、ATP アナログ (AMP-PNP) 複合型、脂肪酸-AMP (ミリストイル-AMP) 複合型の三状態の構造決定を行った。

これら三つの構造から、本酵素はドメイン間のポケットに活性部位をもつ大小二つのドメインからなることがわかり、ATP 及び脂肪酸結合に関与するアミノ酸残基を同定することができた。また、これらの構造を比較することにより、基質 (ATP、脂肪酸、CoA) がどういった順序で酵素に結合するのかといったメカニズムを示した (Bi Uni Uni Bi Ping-Pong メカニズム)。また、本酵素が長鎖脂肪酸といった基質の特性をどのように決定しているかについても新しい説を提唱した。

論文審査の結果の要旨

長鎖脂肪酸アシル CoA 合成酵素は脂肪酸代謝に関与する酵素である。この酵素は、ATP と脂肪酸の反応によって脂肪酸-AMP の形成と、これに CoA が反応して脂肪酸アシル CoA が生成される 2 段階を触媒する。アポ型酵素、ATP 類似化合物複合体、脂肪酸-AMP 複合体の 3 種の結晶構造解析を行った。その結果、以下のことを明らかにした。この酵素は強固な 2 量体を形成し、単量体それぞれは 2 つのドメイン構造から出来ていて、ドメイン間にあるポケットが活性中心となっている。分子内部には長鎖脂肪酸を収納できるポケットがあり、この大きさと形が基質特異性を決定している。ATP が結合することによって構造変化が起こり、基質である脂肪酸を取り込むことが出来るようになる。一連の反応に関与するアミノ酸残基の位置を正確に決定した、これらに基づいて、長鎖脂肪酸アシル CoA 合成反応のメカニズムを提唱することができた。

これらの結果は、細胞内の長鎖脂肪酸代謝の研究に大きく貢献するものであり、博士 (理学) の学位に値するものであると認める。