

令和6年7月11日  
愛媛大学

## 酵素の真の基質の姿が明らかに

愛媛大学大学院農学研究科(沿岸環境科学研究センター 兼任)の渡辺 誠也教授、同左修士課程2年生の赤樫 実結さん、ポーランド・ワルシャワ大学のJakub Drozak教授らの研究グループは、見かけ上の構造が大きく異なる化合物を反応に使う2つの酵素における、まったく新しい分子認識機構を明らかにしました。

本研究成果は、2024年6月25日に学術誌Scientific Reports (Springer Nature)にオンライン掲載されました。

つきましては、ぜひ取材くださいますようお願いいたします。

### 記

掲載誌:Scientific Reports 14, 14602 (2024)

題名:Crystal structure of L-2-keto-3-deoxyfuconate 4-dehydrogenase reveals a unique binding mode as a  $\alpha$ -furanosyl hemiketal of substrates.

著者:赤樫実結<sup>1#</sup>, 渡辺誠也<sup>1,2,3#\*</sup>, Sebastian Kwiatkowski<sup>4</sup>, Jakub Drozak<sup>4</sup>, 寺脇慎一<sup>5</sup>, 渡邊康紀<sup>6</sup>

<sup>1</sup> 愛媛大学大学院農学研究科

<sup>2</sup> 愛媛大学農学部

<sup>3</sup> 愛媛大学沿岸環境科学研究センター (CMES)

<sup>4</sup> ポーランド・ワルシャワ大学

<sup>5</sup> 愛媛大学プロテオサイエンスセンター (PROS)

<sup>6</sup> 山形大学理学部

\* 責任著者

# 共筆頭著者

DOI: [10.1038/s41598-024-65627-8](https://doi.org/10.1038/s41598-024-65627-8)

#### 本件に関する問い合わせ先

愛媛大学大学院農学研究科  
(沿岸環境科学研究センター兼任)  
教授 渡辺 誠也  
TEL: 089-946-9848  
Mail: irab@agr.ehime-u.ac.jp

※ 送付資料 3 枚 (本紙を含む)

## 研究背景

細胞内に存在する多様な化合物(基質)とその触媒化学反応を担う酵素の関係は、古くから「鍵と鍵穴」の関係に例えられます。アミノ酸配列の類似性が高ければ酵素全体の構造も似ている場合が多いため、その反応中心(鍵穴)と基質(鍵)の間にも類似性が認められます。

L-KDFDH は、L-フコースと呼ばれる単糖の細菌によるユニークな代謝経路の酵素として、2006 年に初めて報告されました<sup>[1]</sup>。この酵素の基質である L-KDF は、「2-ケト-3-デオキシ糖酸」と呼ばれる化合物の一種で、これまで発見されたものはすべて直鎖状の構造が酵素の基質になっていました(図 1)。一方、ワルシャワ大学の Drozak 教授らの研究グループは、L-KDFDH と 50%以上の配列相同性を示す哺乳類の BDH2 が、環状の C4LHyp を基質とすることを 2022 年に報告しました<sup>[2]</sup>。こうした経緯から私たちは国際共同研究を開始し、L-KDFDH が C4LHyp も、BDH2 が L-KDF もそれぞれ基質にできることを確認しましたが、両者の基質特異性はこれまでの常識では説明できませんでした。

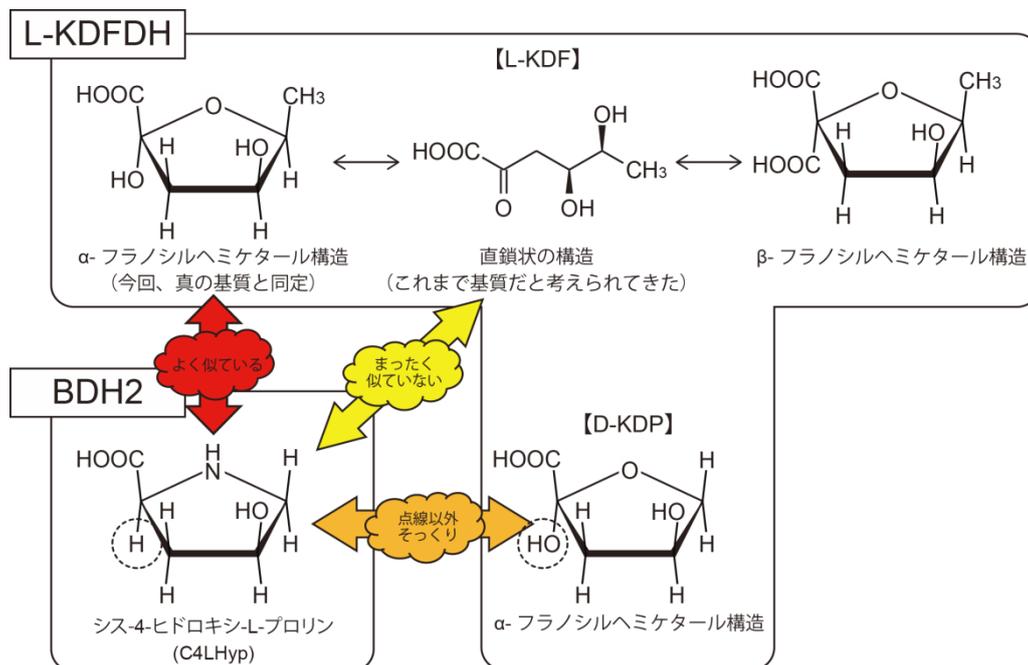


図 1 L-KDFDH と BDH2 の基質構造の比較

## 研究内容

そこで私たちは、L-KDFDH の酵素のみのアポ構造を X 線結晶回折法<sup>[3]</sup>でまず決定しました。この構造は、予想通りすでに知られていた BDH2 の構造<sup>[4]</sup>とよく似ていました。続いてこのアポ結晶に基質である L-KDF を浸み込ませた構造を決定したところ、その反応中心にはフラノシルヘミケタールと呼ばれる五角形の化合物が結合していました(図 2A)。これは、直鎖状の L-KDF の C2 のケト基と C5 の水酸基の間で環化したもので、C2 に新たに生じる水酸基の向きにより  $\alpha$  と  $\beta$  という 2 種類の異性体が生じます(図 1)。このうち結合していたのは  $\alpha$  異性体の方で、C4 のプロトンは触媒塩基である 137 番目のセリン残基の方向を向いており、反応原理と矛盾しません。また、C2 の水酸基と C1 のカルボキシル基は 148、192、214 番目のアルギニン残基によって認識されており、これら一連の結合様式は別の基質である D-KDP でも同じでした(図 2B)。

この D-KDP の骨格構造は C2 の水酸基がある以外は C4LHyp と同じであり、実際 D-KDP の電子密度には C4LHyp もよく当てはめることができました(図 2C)。さらに、上述の 3 つのアルギニンに相当する残基は BDH2 でも保存されていることから、これが L-KDFDH と BDH2 が直鎖状の L-KDF (D-KDP) と環状の C4LHyp を同時に基質にできる分子基盤であることが分かりました。

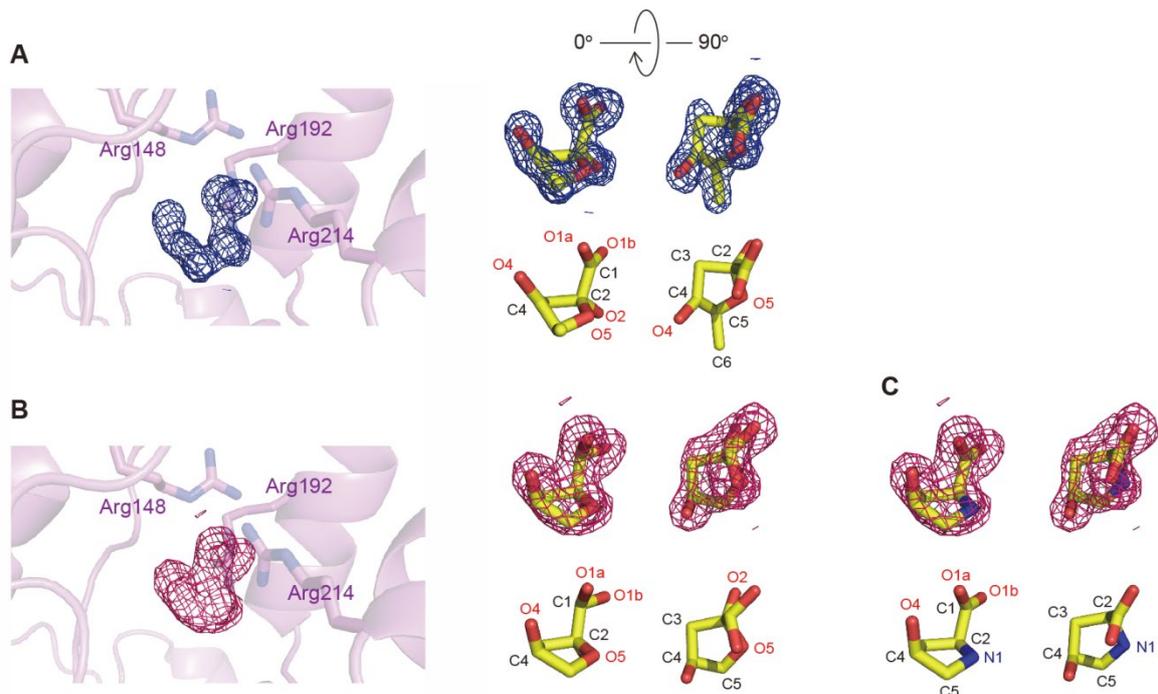


図 2 アポ結晶に基質である L-KDF (A) あるいは D-KDP (B) を浸み込ませた構造の反応中心、および D-KDP の電子密度に C4LHyp を当てはめたもの (C)

## 研究意義

2-ケト-3-デオキシ糖酸が水溶液中で直鎖状構造を介して 2 種類のヘミケタール構造を取ることは古くから知られていました。しかし、それは単なる物理化学的性質に過ぎないと考えられ、特段注目されていませんでした。コンピュータによるタンパク質の立体構造予測や、基質との結合様式の高精度なシミュレーションを利用したとしても、前述のような常識に捕らわれていたならば真の基質の形を発見できたかどうかは分かりません。本研究は、自然にある姿そのものをわたしたち自身の目で見る重要性を、改めて教えてくれます。

## 研究支援

本研究の一部は、科学研究費補助金 (課題番号 24K09366)、愛媛大学大学院農学研究科研究グループ ARG (生命機能科学応用開発グループ) の支援を受けました。

## 補足説明

- [1] Yew *et al. Biochemistry* 45, 14582-14597 (2006)
- [2] Kwiatkowski *et al. J. Biol. Chem.* 298, 101708 (2022)
- [3] タンパク質の立体構造を決定する最も主要な手法の一つ。結晶に X 線を照射して得られる回折点から位相が決まり、電子密度が得られる。良質な結晶を得ることがきわめて重要。
- [4] Guo *et al. J. Biol. Chem.* 281, 10291-10297 (2006)