

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB	セレノシステイン含有タンパク質であるセレノリン酸合成酵素の構造・機能研究				
研究テーマ (欧文) AZ	Structural study of selenophosphate synthetase containing selenocysteine				
研究氏 代表 者	カタカナ CC	姓)セキネ	名)シュンイチ	研究期間 B	2008 ~2009 年
	漢字 CB	関根	俊一	報告年度 YR	2009 年
	ローマ字 CZ	Sekine	Shun-ichi	研究機関名	東京大学
研究代表者 CD 所属機関・職名	東京大学・講師				
概要 EA (600字~800字程度にまとめてください。)	<p>セレン(Se)は細菌からヒトを含む高等動物まで広く用いられている必須の微量栄養素であり、細胞内ではセレノシステイン(Sec)と2-セレノウリジン(s^2U)というかたちでそれぞれタンパク質とRNAに組み込まれた状態で存在している。Sec および s^2U 両方の合成において、リン酸化されたセレン (=セレノリン酸) が活性型のセレン供与体として用いられている。セレノリン酸合成酵素(SPS)は、ATP を用いてセレンを活性化し、セレノリン酸の合成を担う酵素であり、両合成系の酵素群の中で中核的な役割を担っている。興味深いことに、多くの生物において、SPS はそれ自身が Sec を含むタンパク質 (Se 含有タンパク質) であり、活性に不可欠な Cys 残基が Sec で置換されている。</p> <p>われわれは、細菌の一種 <i>Aquifex aeolicus</i> 由来の SPS および SPS と ATP アナログ(AMPCPP)の複合体の結晶構造を決定し、立体構造に基づく変異体解析を行った (<i>J. Mol. Biol.</i>, 2009)。SPS は2つのサブユニットからなるホモ二量体であり、AMPCPP はサブユニット間の境界面に形成された ATP 結合部位に結合していた。4つの Asp 残基が4個の金属イオンを配位しており、それを介して AMPCPP のリン酸基が結合していた。SPS のN末端はフレキシブルなループ構造をとっており、2つのサブユニット間でコンフォメーションが異なっていた。このループ上にある Sec と Lys 残基が活性に必須であることを変異体解析から明らかにした。AMPCPP の\odotリン酸基は溶媒に露出しており、Se を含む求核基が ATP の\odotリン酸基を求核攻撃することによってセレノリン酸と ADP が合成されると考えられる。Se は SPS のN末端ループの Sec 残基に共有結合した状態で捕獲されており、N末端ループが閉じたときに ATP の\odotリン酸基に対して求核攻撃を行うとすると反応を説明できる。βリン酸基の近くに固定された水分子は、次の段階で ADP がオルトリン酸と AMP へと加水分解する際の求核分子として働くものと思われる。</p>				
キーワード FA	セレノウリジン	セレノシステイン	セレン	X線結晶解析	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}	Structure of Selenophosphate Synthetase Essential for Selenium Incorporation into Proteins and RNAs.							
	著者名 ^{GA}	Itoh,Y., Sekine,S. <i>et al.</i>	雑誌名 ^{GC}	J. Mol. Biol.					
	ページ ^{GF}	1456-1469	発行年 ^{GE}	2	0	0	9	巻号 ^{GD}	385(5)
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	~	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	~	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要 EZ

Selenium is an essential micronutrient distributed from bacteria to humans. It is incorporated into proteins and RNAs, as selenocysteine (Sec) and 2-selenouridine residues, respectively. For both of the Sec synthesis and RNA modification pathways, selenophosphate is utilized as a reactive selenium donor. Selenophosphate synthetase (SPS) is the enzyme responsible for the synthesis of selenophosphate, by activating selenide with ATP. Many SPSs are themselves Sec-containing proteins, where Sec replaces the catalytically essential Cys residue. We solved the crystal structures of SPS from a bacterium *Aquifex aeolicus*, and performed mutational analyses. The structure of SPS complexed with α,β -methylene ATP (AMPCPP) revealed that SPS is a homodimer, and ATP-binding site is formed at the subunit interface. Four Asp residues coordinate four metal ions to ligand the AMPCPP phosphate groups. The conformations of the N-terminal flexible loop, including the essential Sec (or Cys) and Lys residues, differ between the two subunits (open and closed). The AMPCPP γ -phosphate group is solvent-accessible, and a putative nucleophile could attack it to generate selenophosphate and ADP. Selenide attached to the Sec (or Cys) residue, as a perselenide (or selenosulfide) group, could be the nucleophile, upon closing the N-terminal loop. A well-ordered water molecule, fixed close to the β -phosphate group, could be the nucleophile in the subsequent ADP hydrolysis to orthophosphate and AMP.