

メチオニン合成酵素のホロ酵素形成に及ぼすメチオニン合成酵素還元酵素の役割

○山田和弘^{1・3・4}、虎谷哲夫²、尾高雅文³、養王田正文³、Rowena Matthews¹

¹ University of Michigan、² 岡山大学、³ 東京農工大学

⁴ e-mail: yamadak@cc.tuat.ac.jp

目的 多くのタンパク質は機能発現のために補欠因子を必要としている。たとえば、酵素が活性を得るためにはビタミンなど補酵素の結合が必須な場合が多い。アポ酵素は何らかの方法で補欠分子族を活性中心に導入し、触媒活性を得る。一方、活性中心の補酵素はその高い反応性故に不活性化されることがある。このような不活性化した酵素を再活性化するタンパク質が存在することが知られている。

ビタミンB₁₂ (cobalamin: Cbl)関与酵素であるメチオニン合成酵素(MS)は葉酸代謝とメチオニン代謝の接点に位置しており、生理的に重要な役割を果たしている(図1)。MSの補酵素であるmethylcobalamin(MeCbl)のメチル基をホモシステインへと渡し、メチオニンとcob(I)alamin (Cbl^I)を生成する(図2)。Cbl^Iはメチルテトラヒドロ葉酸からメチル基を受け取りMeCblとなる。Cbl^Iは非常に酸化されやすく、不活性化補酵素型であるcob(II)alamin (Cbl^{II})となる。ホ乳

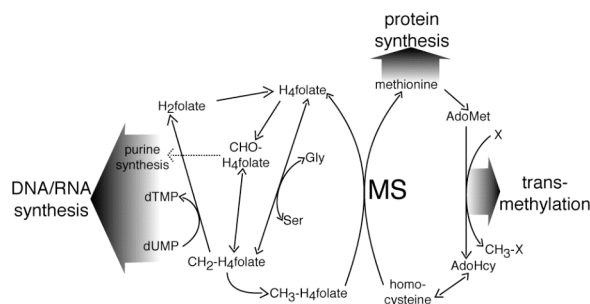


図1. MSは葉酸代謝とメチオニン代謝の接点に位置しており、生理的に重要な役割を果たしている。ビタミンB₁₂欠乏や遺伝子異常などを原因とするMS活性の低下は巨赤芽球性貧血や神経障害などを引き起こすことが知られている。また近年、高ホモシステイン血症が冠動脈疾患や神経管欠損の危険因子として広く認識され、葉酸・メチオニン代謝に関与する酵素の遺伝子多型性による変異、栄養素および疾病との相関が注目されている。

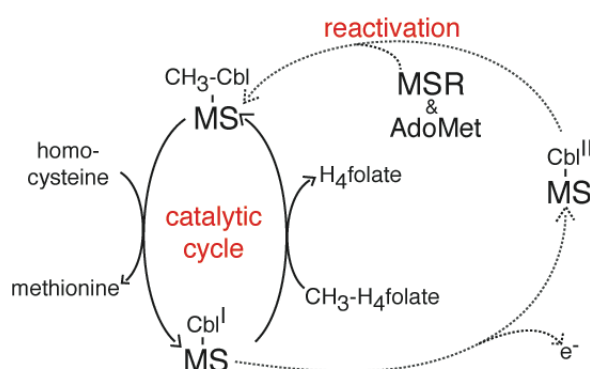


図2. MSの触媒する反応とCblの酸化状態。触媒回路ではCblはメチル基の受け渡しを仲介しているが、中間体であるCbl^Iは容易に電子を失い酸化される。Cbl^{II}-MS複合体は不活性であるが、MSRとアデノシルメチオニン(AdoMet)によりMeCbl-MS複合体へと変換され再び触媒活性を持つ。

類の場合、この不活性な MS-Cbl^{II} 複合体の再活性化に必要なのが S-adenosylmethionine とメチオニン合成酵素還元酵素(MSR)である。MSRはP450 reductaseファミリーに属するフラビントンパク質で、FMNとFADを含んでいる。これまでにヒトMSRの性質についてはフラビンの酸化還元電位など酵素単独での性質については報告されているが、ヒトMSとの相互作用に関する知見はない。そこで、ヒトMSの発現・精製系を確立し、MSとMSRの相互作用について解析を行った。今回は特にMSホロ酵素の形成に及ぼすMSRの影響について報告する。

方法 組み換え体ヒトMSおよびMSRの発現はバキュロウイルス-昆虫細胞系を用いて行った。MSRはN末端にHis-タグ配列を添加し、Ni-アフィニティークロマトグラフを用いて精製した。MSはCbl-アフィニティークロマトグラフを用いる方法でホロ酵素を精製した。apoMSは非常に不安定で精製できなかったため、apoMSを用いたholoMS構成の検討にはapoMSを含む昆虫細胞抽出液を用いた。

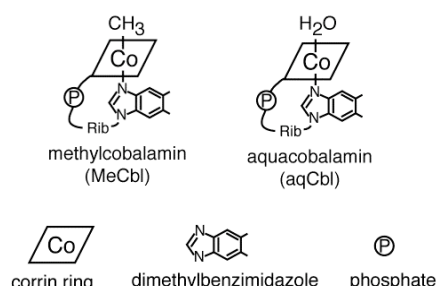


図3. Cbl (MeCblとaqCbl) の構造。

結果・考察 MSを最大に活性化するために必要なMSR:MS比は1:1であった。MSRのMSに対するK_{act}は72 nMと算出された。また、MSRの存在下では、apoMSとCbl (MeCblまたはaquacobalamin (aqCbl)、図3) から、特にaqCblを用いた場合について、ホロ酵素効率は上昇することを見いだした。すなわち、MSRは見かけ上、holoMS合成酵素活性を有することを発見した。この活性を説明するためにいくつかの実験を行った。まず、apoMSはMSRの存在下で安定化されることを明らかにした。さらにMSRのNADPH: aqCbl reductase 活性を発見した。MSRの存在下でholoMSの構成が促進されるのは、apoMSの安定化とaqCblの還元の両者の寄与によるものと結論した。以上のことから、MSRの生理機能はMSの再活性化に留まらず、MSに特異的なシャペロンとして作用している(図4)。

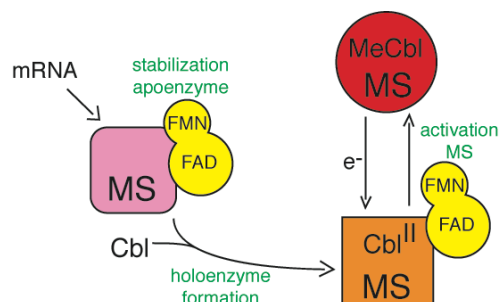


図4. MSRは不活性化したMSを再活性化するタンパク質として同定されたが、MSアポ酵素を安定化し、ホロ酵素の構成を補助する働きがあることを発見した。