

Title	プロスタグランジンD合成酵素のNMR構造解析
Author(s)	竹内, 覚
Citation	
Issue Date	1999-03
Type	Thesis or Dissertation
Text version	none
URL	http://hdl.handle.net/10119/2612
Rights	
Description	Supervisor:大久保 忠恭, 材料科学研究科, 修士

プロスタグランジン D 合成酵素の NMR 構造解析

竹内 覚 (大久保研究室)

プロスタグランジン D 合成酵素 (PGDS) は、プロスタグランジン H_2 (PGH_2) から睡眠誘発に關与するプロスタグランジン D_2 (PGD_2) への異性化を触媒するが、その反応機構の詳細はまだ明らかにされていない。

PGDS には 3 個の Cys 残基があり、これらを Ala または Ser に置換した変異体の解析結果から、種を越えて保存されている Cys65 が反応に必須な残基であり、 PGH_2 の 9,11-エンドペルオキシド基に作用すると推測されている。また、ラット脳型 PGDS は主に脳脊髄液に分泌されているため、脳内活動の制御に深く関与していると考えられる。

PGDS の反応機構を原子レベルで解明するために、NMR による立体構造の解析を行っている。シグナル帰属のため、二次元 NMR の NOESY、TOCSY スペクトルの解析を行った。しかし、通常の 二次元 1H NMR スペクトルより得られた情報だけではシグナルの重なり合いのため、スペクトルの解析が困難であった。三次元 NMR スペクトルでは、 ^{15}N 核と直接結合しているプロトンの關与する NOE やスピン結合の情報だけを選択的に ^{15}N 化学シフト軸上で展開されて得ることができる。つまり、 1H - 1H TOCSY や NOESY スペクトルより得られるのと同じ情報が得られるが、スペクトルの周波数軸として新たに ^{15}N の化学シフト軸が加わっている。これにより、 ^{15}N と NH のシグナルのばらつき具合が違いため、連鎖帰属で重要な NH シグナルの重なり合いを大幅に改善できた。

スペクトルの解析の結果、一次元 1H NMR スペクトルより PGDS は β シートを多く含むことが、さらに NOESY スペクトルの主鎖プロトン間の NOE 情報からは、Ala129-Phe130 の領域が逆平行 β シートを形成していることが明かとなった。

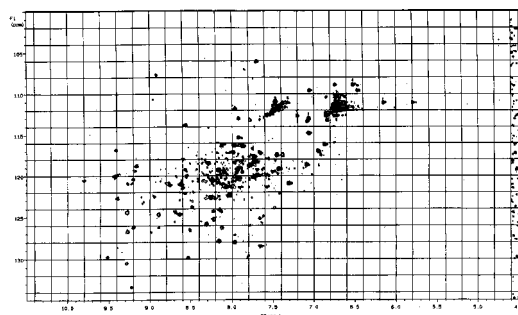


図 1: ^{15}N - 1H HMQC スペクトル

keywords

プロスタグランジン D 合成酵素、NMR、立体構造、NOE