

高度好熱菌 HB8 由来 Thiamine-Monophosphate Kinase (ThiL) の結晶構造解析  
**Crystal Structure Analysis of Thiamine-Monophosphate Kinase (ThiL)  
from *Thermus thermophilus* HB8**

松下千紘<sup>1</sup>, 姜 美奈<sup>1</sup>, 後藤 勝<sup>1,2,3</sup>, 近江理恵<sup>1,2,4</sup>, 宮原郁子<sup>1,2</sup>, 神谷信夫<sup>1,2</sup>

Chihiro Matsushita<sup>1</sup>, Mina Kang<sup>1</sup>, Masaru Goto<sup>1,2,3</sup>,

Rie Omi<sup>1,2,4</sup>, Ikuko Miyahara<sup>1,2</sup>, Nobuo Kamiya<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup> 大阪市立大学理学研究科, <sup>2</sup> 理研播磨研究所/SPRING-8, <sup>3</sup> 大阪医科大学学生化学教室, <sup>4</sup> 京都大学化学研究所)

(<sup>1</sup> Graduate School of Science, Osaka City University, <sup>2</sup> RIKEN Harima Institute at SPRING-8,

<sup>3</sup> Department of Biochemistry, Osaka Medical College, <sup>4</sup> Institute for Chemical Research, Kyoto University)

e-mail: nkamiya@sci.osaka-cu.ac.jp

Thiamine-monophosphate kinase (ThiL) は分子量 33kDa のリン酸基転位酵素であり、後述するようにチアミン代謝系を構成する。ATP, Mg<sup>2+</sup> 依存条件下, Thiamine monophosphate (TMP) を Thiamine pyrophosphate (TPP) に転換する反応を触媒する。ThiL は細菌のみに存在し、一部の細菌や動物を含む真核細胞には存在しない。また酵母菌においては、Thiamine pyrophosphate kinase によってチアミンから直接 TPP が合成されるが、大腸菌などにおいては、まず外来のチアミンが Thiamine kinase によって TMP に転換された後、ThiL によって TMP から TPP が合成されることが報告されている [1]。チアミンは、その欠乏により脚気やウェルニッケ脳症を引き起こす。またチアミンのリン酸化物は多くの酵素の補酵素として働くことが知られており、生物学上の、あるいは医学薬学上の重要性にもかかわらず、ThiL の TPP 生合成における反応機構は未だに十分には理解されていない。

本研究では高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 の ThiL を研究対象とし、その酵素触媒反応機構を明らかにすることを目的として X 線結晶構造解析を行った。ThiL は、4-methyl-5-( $\beta$ -hydroxyethyl) thiazole monophosphate (THZ-P) と 4-amino-5-hydroxymethyl-2-methylpyrimidine pyrophosphate (HMP-PP) から TMP を生合成する ThiE, THZ-P と HMP-PP を生合成する酵素群とともにチアミン代謝系を構成しており、本研究はチアミン代謝系のシステムバイオロジーの一部をなしている。また我々の研究グループでは、ThiL の構造を明らかにした上で、様々な基質を用いて時間分割 X 線結晶構造解析を実行しようと目論んでいる。それにより各時間毎の反応中間状態の構造を解析し ThiL の反応過程をその場観察したいと考えている。

ThiL の結晶化はハンギングドロップ蒸気拡散法により行った。得られた結晶は単斜晶系 (空間群 C2) に属し、非対称単位に4分子を含むものであった。X 線回折強度は実験室系の回転対陰極型 X 線発生装置とイメージングプレート型回折計 (RIGAKU RAXIS-IV) を用いて測定し、分解能 2 Å のデータセットを得た。回折波の位相は重原子同型置換法により求めた。現在結晶構造の精密化がほぼ終了している。

Reference

[1] E. Webb & D. Downs, J. Biol. Chem. 272, (1997) 15702-15707.