

Thermus thermophilus HB8 由来 PurK タンパク質の結晶構造解析

Crystal structure of *N*⁵-CAIR synthetase from *Thermus thermophilus* HB8

○ 角田悟¹, 奥田健司¹, 馬場清喜^{2,3}, 金川真由美², 中川紀子^{2,3},
河合剛太^{2,4}, 三瓶巖一^{1,2}

Satoru Tsunoda¹, Kenji Okuda¹, Seiki Baba^{2,3}, Mayumi Kanagawa², Noriko Nakagawa^{2,3},
Gota Kawai^{2,4}, Gen-ichi Sampei^{1,2}

(¹電通大・量子物質工, ²理研・播磨研, ³阪大・院理, ⁴千葉工大・工)

(¹University of Electro-Communications, ²RIKEN Harima Institute, ³Osaka University,⁴
Chiba Institute of Technology.)

e-mail: gkawai@sea.it-chiba.ac.jp, sampei@pc.uec.ac.jp

*N*⁵-CAIR synthetase (*N*⁵-Carboxyaminoimidazole Ribonucleotide synthetase, 以下 PurK) は ATP と HCO₃⁻を用いて AIR (Aminoimidazole Ribonucleotide) を *N*⁵-CAIR に転換する反応を触媒する酵素であり, *N*⁵-CAIR mutase (PurE) と共にプリンヌクレオチド生合成系の 6 番目の反応に関与する。

今回は, *Thermus thermophilus* (*T.thermophilus*) HB8 の PurK の結晶構造について報告する. 天然型の PurK 単体では, 結晶を得ることができなかったが, 基質アナログ AMP-PNP と混合した時に 0.37×0.23×0.23 mm³の単結晶を得ることができた. この結晶を用い, SPring-8において単波長でデータを収集した. その測定結果および HKL-2000 を用いた解析から得られた結晶学的データを表 1 に示す. 得られたデータから, 結晶は非対称単位中に 2 つの分子を含んでいた. プログラム CCP4 (AmoRe) を用いて *E. coli* PurK をモデル構造とした分子置換法による解析

表 1 結晶学的データ

Data collection	
Space group	P4 ₁
a, b, c (Å)	80.2, 80.2, 204.5
α, β, γ (°)	90.0, 90.0, 90.0
Wave length (Å)	1.000
Dmini (Å)	2.8
Completeness (%)	94.9
Rsym (%)	9.7

を行ったところ, 最大分解能 2.8 Å において, R=26.6%, free R=31.7%となった(図 1a). 現時点では分解能が十分ではないので AMP-PNP を確認することはできなかった. 今回得られた構造と *E. coli* PurK の結晶構造の比較を図 1 に示す. *E. coli* PurK は 3 つの domain (A-domain, B-domain, C-domain) から成り, A-domain には基質リン酸基の結合部位であると考えられている P-loop が存在する. *T. thermophilus* PurK の結晶構造にも同様に P-loop を確認することができた. この領域のアミノ酸配列には高い相同性が見られるため, *T. thermophilus* PurK においてもこの部位が基質結合に関わる可能性が高い(図 1). しかし, 同様に基質結合に関与している C-domain では *T. thermophilus* と *E. coli* で重要なアミノ酸残基は保存されているものの, 立体構造にはやや違いが見られた. 現在は, より正確な立体構造を得るため, 精度の高い回折像を得られる結晶化条件の再検討を行っている.

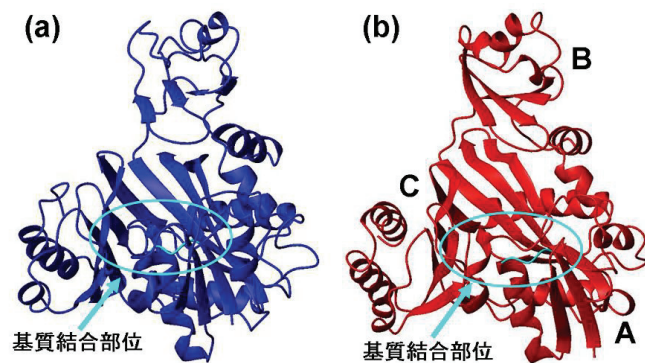


図1: PurK の結晶構造

(a) *T. thermophilus* (b) *E. coli*

(参考文献) 1. James B. Thoden, T. Joseph Kappock, JoAnne Stubbe, and Hazel M. Holden. *Biochemistry*,

38 (47),15480 -15492,1999.