

Aquifex aeolicus VF5 由来 PurK タンパク質の結晶構造解析**Crystal structure of N⁵-CAIR synthetase from *Aquifex aeolicus* VF5**○金川真由美¹, 馬場清喜^{1,2}, 中川紀子^{1,2}, 海老原章郎¹, 河合剛太^{1,3}, 三瓶巖一^{1,4}Mayumi Kanagawa¹, Seiki Baba^{1,2}, Noriko Nakagawa^{1,2}, Akio Ebihara¹,Gota Kawai^{1,3} and Gen-ichi Sampei^{1,4}(¹理研・播磨研, ²阪大・院理, ³千葉工大・工, ⁴電通大・量子物質工)(¹RIKEN Harima Institute, ²Osaka University, ³Chiba Institute of Technology,⁴University of Electro-Communications)

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

phosphoribosylaminoimidazole carboxylase ATPase subunit (N⁵-CAIR synthetase : PurK)は phosphoribosylaminoimidazole carboxylase catalytic subunit (PurE)と共にプリンヌクレオチド合成系の第 6 番目の反応に関わる酵素ある。プリンヌクレオチド生成過程においてこの反応はプリン環の 6 位の位置にカルボニル基を付加する反応で, AIR, ATP そして HCO₃ から CAIR, ADP そして Pi を生成する反応を触媒する。この反応は二段階反応で、反応の前半のカルボニル基を AIR に付加して N⁵-CAIR を形成する反応を PurK が行い、そのカルボニル基を目的のプリン環の 6 位の位置に転移させる反応を PurE が行う。今回私たちは *Aquifex aeolicus* VF5 の PurK (aqPurK)の X 線結晶構造解析を行ったのでここに報告する。

Se-Met 置換体 aqPurK について回折データの収集を行った(表 1)。位相決定は MAD 法で行い精密化は CNS で行った。この結晶は非対称単位中に 2 つの分子を含んでおり、それらが二量体を形成していることがわかった。現在精密化の途中で、R=32.0%, free R=35.1%となった(図 1(a))。また、この aqPurK は分子に基質を入れない条件で結晶化した。その結果、一部構造構築の難しい箇所があった。すでに構造決定されている *E. coli* PurK の結晶構造(図 1(c)) (PDB ID:1B6R)との比較から、この箇所の一つは ATP 結合部位のある Bドメインであることがわかった。*E. coli* PurK との一次配列の相同性検索の結果から *A. aeolicus* でも似たような様式でこの箇所に ATP が結合することが示唆される。ATP がこの Bドメインに結合することにより構造が安定化することが考えられる。表 1: aqPurK の結晶学的データ

また同じく基質結合部位と推測されている P-loop モチーフの一部でも構築率が悪かった。現在さらなる精密化を進めると共に基質アナログを入れた結晶化をして原子レベルでの反応モデルの考察を試みている。

Data collection		P1		
Space group				
a, b, c (Å)		50.7, 54.4, 73.2		
α, β, γ (°)		93.8, 102.0, 114.2		
Wave length (Å)		0.9789	0.9793	0.9000
Dmini (Å)		2.3	2.3	2.3
Completeness (%)		94.9	97.3	98.1
Rsym (%)		3.9	3.8	3.7

(参考文献)

1. James B. Thoden, T. Joseph Kappock, JoAnne Stubbe, and Hazel M. Holden. *Biochemistry*, **38** (47), 15480 -15492, 1999.

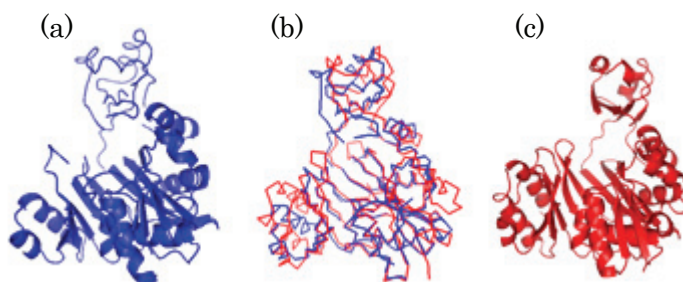


図1: PurK の結晶構造 (a) *A. aeolicus* (b) *A. aeolicus* と *E. coli* を重ねた構造 (c) *E. coli*