

高度好熱菌 *Thermus Thermophilus* HB8 由来  
 ペプチドグリカン合成酵素 Mur E の X 線結晶構造解析  
**X-ray Analysis of Peptideglycan Synthetase Mur E  
 from *Thermus Thermophilus* HB8**

Fujio Matsuzaki<sup>1</sup>, Yuichi Baba<sup>1</sup>, Makoto Kimura<sup>1,2</sup>, Yoshimitsu Kakuta<sup>1,2</sup>

松崎富士郎<sup>1</sup>, 馬場裕一<sup>1</sup>, 木村誠<sup>1,2</sup>, 角田佳光<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>Faculty of Agr., Grad. Sch., Kyushu Univ, <sup>2</sup>RIKEN Harima Institute/Spring-8.)

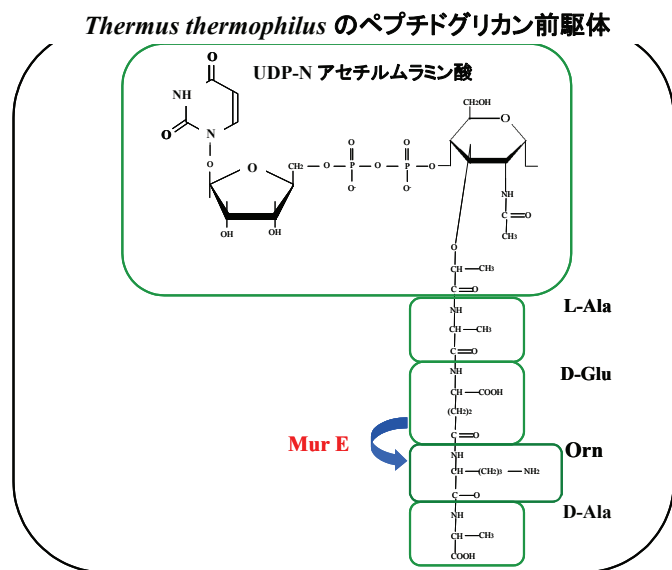
(<sup>1</sup>九州大学農学研究院, <sup>2</sup>理化学研究所)

e-mail: [kakuta@agr.kyushu-u.ac.jp](mailto:kakuta@agr.kyushu-u.ac.jp)

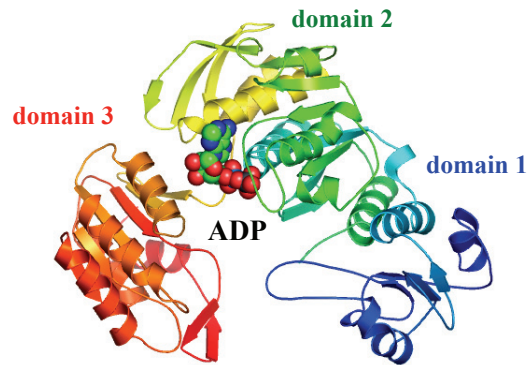
ペプチドグリカンは細菌の細胞膜の外側に存在し、主に 7 つの酵素によって、糖鎖の繰り返しとペプチドの架橋からなる網目状構造に合成される。まず MurA、B によって UDP-N アセチルムラミン酸が合成され、その後 MurC、D、E、F により連続にペプチド鎖が伸長され、最後に MurG によってペプチド鎖間で架橋がなされる。特に、ペプチドグリカン前駆体にアミノ酸を付加する MurC、D、E、F は Mur ligase と呼ばれている。ペプチドグリカンはその強靱な構造から膜を支えて細胞の外形を決定し、細胞原形質の浸透圧により細胞が膨張破壊することを防いでいる。

*Thermus thrmophilus* 由来 MurE (MW : 51791) は、ペプチドグリカン前駆体の UDP-N アセチルムラミン酸 L-Ala-D-Glu にオルニチン (Orn) を付加するペプチドグリカン合成酵素と予想される。ペプチドグリカン合成酵素群は様々な細菌において高度に保存されており、本酵素は既に構造が報告されている *E.coli* 由来 MurE と 34% の Identity を持つ。*E.coli* 由来 MurE は Orn ではなく 2,6-Diaminopimelate を付加し、その反応は ATP の加水分解によって進められる。我々は高度好熱菌 *Thermus thrmophilus* HB8 における本酵素の基質特異性及び熱耐性メカニズムを明らかにするために X 線結晶構造解析を進めている。

MurE は、予想反応生成物である ADP を 4 mM となるように加え、タンパク質濃度 6.2 mg/ml で結晶化スクリーニングを行った。その結果、PEG3350 を沈殿剤とする条件で 0.2×0.2×0.2 mm<sup>3</sup> の柱状の結晶を得ることができた。この結晶にクライオプロテクトANTとしてグリセロールを終濃度 10% となるように加え、SPring-8 BL26B1 にて回折実験を行った。分解能 2.0 Å のデータを収集し、格子定数は a = 59.9 Å, b = 64.4 Å, c = 64.6 Å, β = 105.4° で空間群は P2<sub>1</sub> であった。Hg 及び Pt 誘導体による MIR 法で位相を決定し、別に測定した分解能 1.6 Å のデータで ADP 複合体の構造を決定した。



MurE は弓状に連なる 3 つのドメインから成っており、N 末端側からドメイン 1、2、3 とすると、ドメイン 2 とドメイン 3 の間に ADP が結合していた。ADP 結合部位では、Mur ligase と一次配列上よく保存されたアミノ酸残基が ADP と相互作用していることがわかった。現在はもう一つの基質である Orn 複合体結晶の X 線解析実験を行い、基質認識機構の解明を目指している。



*Thermus thermophilus* HB8 由来 MurE のリボンモデル