

Thermus thermophilus HB8 由来 PurA の結晶構造及び機能解析**Crystal structure and function analysis of PurA from *Thermus thermophilus* HB8**

○高広行¹, 金川真由美², 北村吉章², 中川紀子^{2,3}, 海老原章郎², 河合剛太^{2,4}, 三瓶厳一^{1,2}
 ○Hiroyuki Taka¹, Mayumi Kanagawa², Yoshiaki Kitamura², Noriko Nakagawa^{2,3}, Akio Ebihara²
 Gota Kawai^{2,4}, and 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)

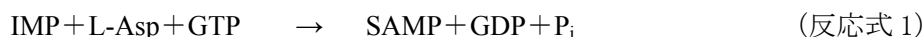
(¹University of Electro-Communications, ²RIKEN Harima Institute,

³ Osaka University, ⁴Chiba Institute of Technology)

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

プリンヌクレオチド生合成系はIMPを分岐点としてAMPとGMPを生成する経路に分かれる(図1)。この分岐経路が、完全な生合成系を保持しない種においても存在することから、RNA, DNA合成に必要なATP, GTP, dATP, dGTPを供給する重要な経路であると考えられている。AMPを合成する経路は、まずadenylosuccinate synthetase (PurA)が触媒し、GTPを利用してIMPとアスパラギン酸からSAMPを生成し、2段階目にadenylosuccinate lyase (PurB)が関与してSAMPからフマル酸を脱離させAMPを生成する。GMPを合成する経路は、IMP dehydrogenase (GuaB)が関与してIMPをNAD⁺で酸化してXMPを生成し、二段階目にGMP synthetase (GuaA)が関与してATPを利用してグルタミンとXMPからGMPを生成する(図1)。このようにAMP合成にGTPが、GMP合成にATPが利用されることで、AMPとGMPの合成量のバランスが取られていると考えられる。また、これらの経路は中間産物によるフィードバック阻害を受ける。例えば、PurAはAMPにより、GuaBはGMPによりIMPとの競合阻害を受け、プリンヌクレオチドの過剰な蓄積を防ぐと考えられる。

私たちは、*Thermus thermophilus* HB8 をモデル生物として、プリンヌクレオチド生合成系タンパク質の構造および機能の解析を進めているが、今回は、AMP から SAMP を生成する反応(反応式 1)に関与する PurA について立体構造を決定したので報告する。



現在までに、PurA と IMP の共結晶を得ることができ、その結晶を用いて構造解析を行った。回折データはSPring-8 で収集し 2.2 Å の分解能を得た。CCP4 を用いた分子置換法によって位相を決定し、arpwarp によってモデルの再構築を行った後、REFMAC5 と Coot で構造精密化を行った。その結果、R-factor=19% free-R=25% となり、活性部位に IMP が結合していることも確認された(図2)。

発表では、得られた全体構造および活性部位付近の立体構造を他の生物の酵素と比較し、その構造と機能の関係について議論したい。

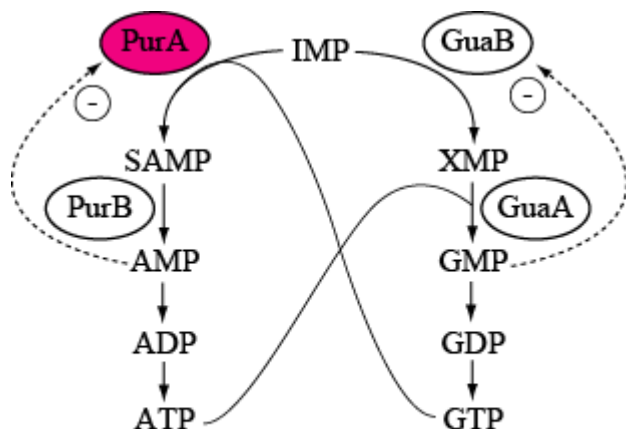


図 1. IMP から ATP, GTP 合成までの経路

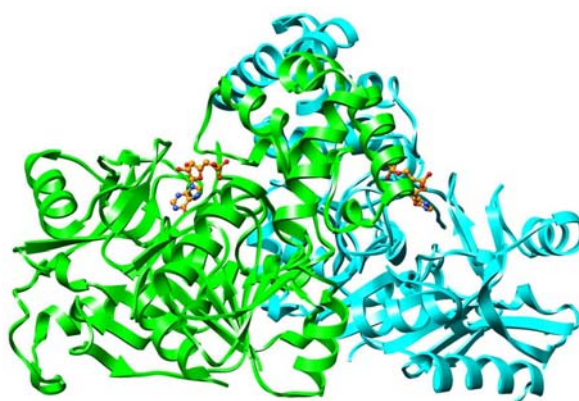


図2. TtPurAホモ二量体・IMP複合体リボン図