

好熱菌由来 ADP リボースピロリン酸分解酵素の中性子結晶構造解析
Neutron Diffraction Study of ADP-ribose pyrophosphatase from
Thermus thermophilus HB8

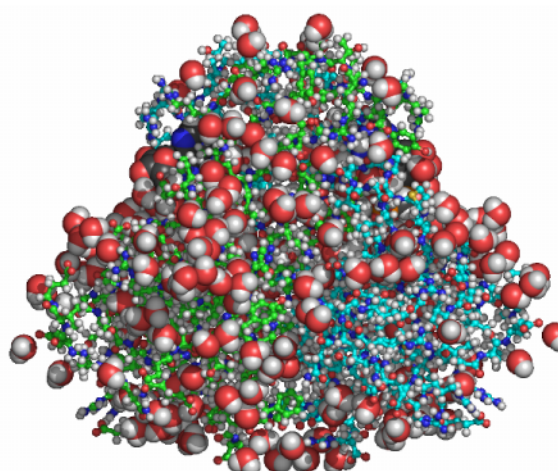
玉田 太郎¹, 安達 基泰¹, 栗原 和男¹, 大賀 拓史², 倉光 成紀², 黒木 良太¹
 Taro Tamada¹, Motoyasu Adachi¹, Kazuo Kurihara¹, Takushi Ooga²,
 Seiki Kuramitsu², Ryota Kuroki¹
 (¹日本原子力研究開発機構, ²大阪大学)
 (¹Japan Atomic Energy Agency, ²Osaka University)
 e-mail: tamada.taro@jaea.go.jp

ADP リボースピロリン酸分解酵素(ADPRase)は、2 価金属イオンの存在下において ADP リボースをリボース 5'リン酸と AMP に加水分解する酵素である。高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 由来の ADPRase の立体構造は金属イオンおよび基質との複合体も含めたさまざまな状態が X 線結晶構造解析により明らかになっている[1]。我々は ADPRase の触媒反応に関与する水分子の役割や解離性アミノ酸のイオン化状態を明らかにし、ADPRase の反応機構をより詳細に理解することを目的として、高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 由来 ADPRase の中性子結晶構造解析を実施した

中性子回折実験を可能とする大型結晶取得のために、高度好熱菌由来の ADPRase を大腸菌の系を用いて発現後、疎水および陰イオン交換カラムクロマトグラフィーにより、高純度かつ大量の試料を作製した。既報告の条件で結晶を取得後、結晶の大型化は、PEG4000 を沈殿剤としてマクロシーディング法によって実施し、2 ヶ月間シーディングを繰り返した結果、最終的に 3.2 x 2.8 x 1.5 (13 mm³)の結晶を取得した。中性子回折実験は日本原子力研究開発機構の研究用原子炉 JRR3 に設置された生体高分子用回折装置 BIX-3 において実施し、重水溶液に浸漬した大型結晶を用いて、2.1Å 分解能の中性子回折データを得た。中性子回折実験後の同一結晶を用いて Photon Factory(BL6A)における X 線回折実験を行い、1.2Å 分解能の X 線回折データを併せて取得した。現在、中性子と X 線の両データを用いた精密化を実施中であり、現時点での結晶学的 R 値は 18% (free R 値は 25%) である。図 1 は、ADPRase の中性子構造を示しており、全原子の約半数を占める水素(重水素)原子の位置が水和水や解離基の状態も含めて明らかになりつつある。

Figure 1. ADPRase の中性子構造

結晶学的対称に基づく二量体構造を形成している。ADPRase を ball & stick モデルで、水および阻害剤分子を space-filling モデルで表示しており、白色が水素(重水素)原子である。



Reference

[1] Yoshiba S, Ooga T, Nakagawa N, Shibata T, Inoue Y, Yokoyama S, Kuramitsu S, Masui R. (2004). *J. Biol. Chem.* 279, 163-174,