

Geobacillus kaustophilus 由来 PurH の結晶構造解析**Crystal structure of PurH from *Geobacillus kaustophilus***

○三井翔平¹, 金川真由美², 馬場清喜^{2,3}, 中川紀子^{2,4}, 海老原章郎²,
河合剛太^{2,5}, 三瓶巖一^{1,2}

○Shohei Mitsui¹, Mayumi Kanagawa², Seiki Baba^{2,3}, Noriko Nakagawa^{2,4}, Akio Ebihara²,
Gota Kawai^{2,5}, and Gen-ichi Sampei^{1,2}

(¹ 電通大・量子物質工, ² 理研・播磨研, ³ 高輝度光科学研究センター,
⁴ 阪大・院理, ⁵ 千葉工大・工)

(¹University of Electro-Communications, ²RIKEN Harima Institute, ³Japan Synchrotron
Radiation Research Institute, ⁴Osaka University, ⁵Chiba 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において, 9 および 10 番目の反応に関与する AICAR ホルミルトランスフェラーゼ(AICAR Tfase)および IMP シクロヒドラーゼ(IMPCH)は, 1種類のポリペプチドからなる二機能酵素であり, PurHと呼ばれる. AICAR Tfase が 10-ホルミルテトラヒドロ葉酸のホルミル基を AICAR に転移して FAICAR を生成し, 次いで, IMPCH が FAICAR を脱水閉環して IMP を合成する. また, FAICAR とキサントシンーリン酸(XMP)の構造が類似することから, この酵素は生合成系の下流に位置する XMP による拮抗阻害を受ける. これまでに, ヒトの PurH(HsPurH), ニワトリの PurH(GgPurH)および好熱菌 *Thermotoga maritima* の PurH(TmPurH)の立体構造が決定されている.

今回, 好熱菌 *Geobacillus kaustophilus* の PurH(GkPurH)について, 阻害剤 XMP との複合体のX線結晶構造解析を行った. SAD 法によって位相を決定し, arpwrap によってモデルの再構築を行ったのち, Coot によるモデルの修正および, Refmac と CNS による構造精密化を行った. その結果, R 値が 18.8%, freeR 値が 22.5%となり, 活性部位に XMP と FAICAR が結合していることも確認した(図). 結晶化の際にはXMPしか加えていないので, FAICARは精製の段階から結合していた可能性が考えられる.

GkPurHの構造は, 既に構造が決定されているTmPurHの構造とほぼ一致していた. 一方, HsPurHとGgPurHの構造もよく類似しているため, GkPurH とGgPurHの比較を行った. その結果, AICAR Tfase, IMPCH 各ドメインの folding はおおむね同じであったが, GkPurHのAICAR TfaseドメインはGgPurHのそれに比べてかなりコンパクトになっていた. また, ドメイン間の配置は大きく異なっており, 二量体の対称軸の回りに約 120° 回転していることがわかった. また, 基質結合部位については, AICAR (FAICAR) 結合部位およびIMP (XMP) 結合部位がほぼ一致しており, リガンドのコンホメーションにも特に違いは見られなかった.

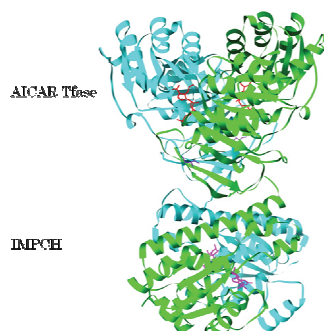


図1. GkPurH・FAICAR・XMP 複合体の立体構造

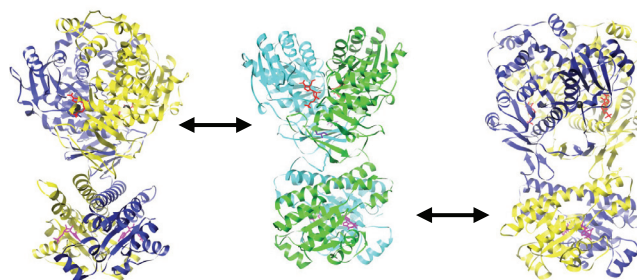


図2. GgPurH(左右)とGkPurH(中央)の立体構造.
GgPurHの左右の図は, 120° 回転してある.