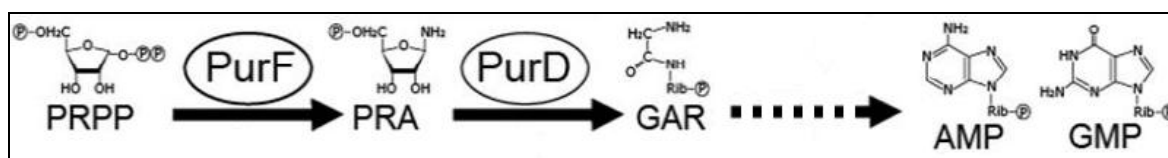


修 士 論 文 の 和 文 要 旨

研究科・専攻	大学院 情報理工学研究科	先進理工学専攻	博士前期課程
氏 名	宮澤 良太	学籍番号	1033082
論文題目	高度好熱菌由来 PurF, PurD の結晶構造解析		

1. 研究の目的と概要

プリンヌクレオチド生合成系はホスホリボシルピロリン酸(PRPP)を出発物質として、順番にホスホリボシルアミン(PRA)、グリシンアミドリボヌクレオチド(GAR)に代謝し、さらに 12 段階の反応を経て AMP と GMP を合成する経路である。その第一段階はグルタミン PRPP アミドトランスフェラーゼ(PurF)、第二段階は GAR シンテターゼ(PurD)という酵素により反応を触媒される。



PurF と PurD は、不安定中間体であるホスホリボシルアミン(PRA)を受け渡すために相互作用すると考えられている。本研究では、その相互作用解析へのアプローチの一環としてこれら 2 つの酵素の立体構造解析を試みた。特に、*Thermus thermophilus* HB8 由来 PurD (*TtPurD*)については、不安定中間体 PRA との共結晶化に挑んだ。

2. 実験方法

- (1) タンパク質の大量発現と精製：発現ベクター pET-11a を宿主菌 Rosetta-gami 株に形質転換して目的タンパク質の大量発現を行い、HPLC にて精製した。
- (2) 結晶化：ハンギングドロップ蒸気拡散法にてタンパク質の結晶化を行った。
- (3) 構造解析：大型放射光施設 SPring-8 BL38B1 で X 線回折を行い、得られた回折データから、タンパク質の立体構造を決定した。

3. 結果

TtPurF, *TtPurD*、共に実験は結晶化まで進み、*TtPurD* については構造解析まで終了した。不安定中間体 PRA は結晶化の際には添加せず、結晶ができた後にソーキングする方法を取った。しかし、得られたデータはアポ体と基質グリシンとの複合体の立体構造であり、PRA との複合体のデータは得られなかった。今回決定された構造と他の生物由来の PurD の比較を行い、触媒反応のための構造変化についても考察した。